

Helio Ricardo da Silva

**SEQUÊNCIA DE OSSIFICAÇÃO CRANIANA DE  
APARASPHEODON BRUNOI MIRANDA-RIBEIRO, 1920, COM  
COMENTÁRIOS SOBRE O CONDROCRÂNIO E O DESENVOLVIMENTO  
DA ORNAMENTAÇÃO ÓSSEA (AMPHIBIA, ANURA, HYLIDAE).**

Dissertação apresentada à Coordenação de Pós-graduação em Zoologia do Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas - Zoologia.

Tese aprovada por:

Prof. Dr. Eugênio Izeckzohn (UFRRJ)  
(Presidente da Banca)

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Norma M. B. Gomes (USP)

Prof. Dr. Carlos A. Gonçalves da Cruz (UFRRJ)

Rio de Janeiro, 22 de Novembro de 1991.

## FICHA CATALOGRÁFICA

Da Silva, Helio Ricardo

Sequência de ossificação craniana de *Aparasphenodon bruno* Miranda-Ribeiro, 1920, com comentários sobre o condrocânio e o desenvolvimento da ornamentação óssea (Amphibia, Anura, Hylidae).

ix, 80 fls.

Tese: Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia)

1. Hylidae 2. Desenvolvimento 3. Crânio 4. Tese

I. Universidade Federal do Rio de Janeiro

II. Título

Trabalho realizado no Setor de Herpetologia do Depto.  
de Vertebrados do Museu Nacional do Rio de Janeiro -  
UFRJ.

Orientador: Prof. Dr. Ulisses Caramaschi.

## **AGRADECIMENTOS**

A realização das diferentes etapas deste trabalho só foi possível graças a colaboração, direta ou indireta, de alguns amigos e colegas, dos quais em especial agradeço:

A "co-pilota", Mônica Cox de Britto Pereira, pelo constante apoio e por controlar as coisas, mesmo quando parecia que o "avião ia cair".

A Shirley Cox, mãe da Mônica, que foi minha segunda mãe enquanto eu trabalhei em sua casa.

Aos amigos Leandro Salles e Hussam Zaher (Saudades!) pelo constante apoio e pelo envio dos artigos "impossíveis".

A Dra. Linda Trueb, da Universidade de Kansas, pelo envio de artigos e algumas sugestões no início do trabalho.

Aos Amigos Mônica Cox, Hussam Zaher, Marcelo Soares e Sônia Pantoja que ajudaram durante as coletas em Maricá - RJ.

Ao Professor Sérgio Potsch de Carvalho e Silva, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pelo empréstimo dos girinos de *Aparasphenodon bruno*i da sua coleção.

Ao Richard Sachsse pelas "aulinhas" sobre o condrocrânio dos anuros e por parte da bibliografia sobre o condrocrânio.

A família do Professor Antenor Leitão de Carvalho que, após a sua morte, permitiu que o setor de herpetologia do Museu Nacional do Rio de Janeiro ficasse com a sua biblioteca, e deste modo que herdássemos sua inestimável coleção de livros e separatas.

A Professora e Amiga Marly Cruz V. da Silva, Diretora do Instituto de Biologia da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, e ao Chefe do Departamento de Histologia da mesma instituição por permitirem a utilização do laboratório de histologia.

Aos Professores Hernandes F. de Carvalho e Sebastião Taboga do Departamento de Biologia Celular da Universidade Estadual de Campinas, que ajudaram na interpretação dos cortes histológicos.

Ao Amigo Marcio Zikan por ceder a sua casa quando precisei ir a Campinas.

A Dra. Marcia Couri e a Professora Denise Pamplona pelos agradáveis momentos enquanto eu precisei usar a lupa do laboratório de Díptera e Insetos Bibliófagos.

Ao Professor, Dr. e Amigo Clóvis B. e Castro por ter me mostrado "o caminho das pedras" com os computadores.

Aos amigos de longas datas (em especial ao Fábio B. Pitombo), entre outras coisas, por me ajudar a levantar depois de alguns inevitáveis "acidentes de percurso".

Aos Professores e Amigos Walter Veiga, Marly Cruz V. da Silva e Nilza Bragança por terem criado, desde o primeiro grau, condições para que eu chegasse até aqui.

Aos Amigos Fábio B. Pitombo (& Pilar), Mônica Cox, Maurício Luz, Carlos Augusto Caetano, Ricardo Waizbort (e seu irmão Helinho), Tami Bogéa, Darcílio Batista, João Alves, Felipe Lobato, Edmilson Rocha, André Minelli, Carlos Renato Ventura, José Roberto Pujol e tantos outros... por estarem sempre por perto.

Ao Professor, Dr. e Amigo Rui Cerqueira pelo apoio e incentivo no meu começo com os sapos.

Ao Professor, Dr., Amigo e Orientador Ulisses Caramaschi por ter tornado esta tarefa bastante agradável e às vezes até divertida.

Aos meus Pais, Bruno e Maria Rosa, e Irmãos (que são muitos!) porque, embora eu mesmo não compreenda, admiram e incentivam o meu trabalho.

Aos Amigos Mônica Cox, Alcimar L. Carvalho, Richard Sachsse e a "Professora" Cleide Mendonça pelas críticas aos meus escritos.

Aos Companheiros do Lab. e associados, mineiros e "ictiófilos", pelo apoio e amizade.

A CAPES pela bolsa de estudos concedida.

## RESUMO

Estudou-se o desenvolvimento dos ossos cranianos de *Aparasphenodon bruno*i Miranda-Ribeiro, 1920 (Anura, Hylidae) através do exame de girinos e recém-metamorfoseados, diafanizados e corados com alizarina e azul de alciano. Os girinos e os recém-metamorfoseados foram agrupados em classes de desenvolvimento, adotando-se para os primeiros a tabela de Gosner (1960) e para os outros a extensão e o grau de ornamentação no crânio.

São descritos o girino, o condrocânio em diferentes estágios, a sequência de ossificação craniana, os ossos e cartilagens do crânio dos adultos e o desenvolvimento das cristas e espinhos que ornamentam os ossos do teto craniano.

Entre os resultados destacam-se o desenvolvimento do pré-nasal, a partir de dois centros de ossificação e não de um como anteriormente descrito, a inexistência de um esfenetmóide dérmico, e o desenvolvimento dos ornamentos a partir da superfície dos ossos e não da ossificação da derme - ausência do processo de co-ossificação. A morfologia do condrocânio e a sequência de ossificação de *A. bruno*i são comparadas com as descrições para outras espécies, o que foi feito com reservas, devido a escassez de informações na literatura.

São ainda discutidos: o modelo criado para se estudar o ritmo de ossificação do crânio em anuros, o uso dos estágios caracterizados nas tabelas de desenvolvimento como referencial para descrição e comparação do desenvolvimento morfológico, a utilização dos dados de ontogenia, a homologia de alguns elementos ósseos, o processo de co-ossificação e, com base na morfologia craniana, a relação entre *A. bruno*i e os "Casque-headed".

**ABSTRACT**

The development of cranial bones of *Aparasphenodon brunoi* Miranda-Ribeiro, 1920 was studied by the examination of tadpoles, froglets and juveniles, cleared and alcian blue - alizarin stained. The animals were staged using Gosner (1960) for tadpoles, and the extension and degree of cranial ornamentation for froglets and juveniles.

The tadpole, the chondrocranium at different developmental stages, the sequence of cranial ossification, the cartilages and bones of the adult cranium, and the development of crests and spines that ornaments the cranial roof elements were described.

Among the main results were the development of the prenasal bone from two independent ossification centers, the absence of a dermal sphenetmoid, and the ornamentation development from the bones surfaces and not from the ossification of the dermal layer - the process of co-ossification was not observed. The morphology of the chondrocranium and the ossification sequence were compared with those from the literature on other species.

Further discussion was presented for: a model developed for studying the timing of cranial ossification among anurans; the use of stages in the development tables as a reference for description and morphological comparison; the use of ontogenetical data; the homology of certain bone elements; the process of co-ossification; and the relationship among *A. brunoi* and the casque-headed group, based on the cranial morphology.



## SUMÁRIO

	fls.
Ficha Catalográfica .....	ii
Agradecimentos .....	iv
Resumo .....	vii
Abstracts .....	viii
1. Introdução .....	1
2. Objetivos .....	3
3. Histórico .....	4
4. Considerações Gerais .....	13
4.1. O Tecido Ósseo .....	13
4.2. Ossificação Intramembranosa .....	14
4.3. Ossificação Endocondral .....	15
4.4. Ornamentação da Superfície Óssea .....	15
5. Material e Métodos .....	19
6. Resultados .....	21
6.1. O Girino de <i>Aparasphenodon brunoi</i> .....	21
6.2. O Condrocrânio no Estágio 37 .....	26
6.3. Observações do Condrocrânio em Outros Estágios .....	28
6.4. Sequência de Ossificação Craniana .....	35
6.5. O Crânio dos Adultos de <i>Aparasphenodon brunoi</i> .....	42
6.6. Ornamentação .....	51
7. Discussão .....	53
7.1. Condrocrânio e Estruturas Cartilaginosas .....	53
7.2. Sequência de Ossificação .....	55
7.3. Estágios e Desenvolvimento .....	57
7.4. Ornamentação dos Ossos do Teto Craniano .....	60
7.5. Comentários sobre Alguns Elementos Ósseos .....	63
7.6. O Crânio de <i>Aparasphenodon brunoi</i> e a Relação entre os Gêneros do Grupo dos "Casque-headed" .....	65
8. Conclusões .....	67
9. Referências Bibliográficas.....	69

## 1. INTRODUÇÃO

Os estudos do desenvolvimento têm reconhecida importância na compreensão de vários fenômenos biológicos (ver Moore, 1987) e vêm sendo empregados desde a origem da morfologia comparada, que é atribuída a Aristóteles (384-322 A.C.) (Rieppel, 1988).

Na área da Biologia Comparada deve-se destacar o reconhecimento e o teste de homologias, que por muito tempo estiveram vinculados unicamente à observação direta da ontogenia (ver Rieppel, 1988), além da própria classificação dos seres vivos, que foi desenvolvida com base em observações do desenvolvimento dos organismos (Moore, 1987; Rieppel, 1988).

O desconhecimento das várias formas pelas quais pode passar um organismo fez com que os taxonomistas antigos cometessem alguns enganos que se tornaram clássicos na história da classificação biológica. Este é o caso, por exemplo, das cracas (Cirripedia) que por muito tempo foram agrupadas entre moluscos, e somente após o descobrimento de suas larvas e o estudo de seu desenvolvimento foram agrupadas entre os crustáceos (ver Moore, 1988).

Entre os anfíbios anuros pode-se citar como exemplo – embora menos pitoresco – a própria história taxonômica da espécie que aqui será estudada. *Aparasphenodon brunoi* Miranda-Ribeiro, 1920 tem como sinônimos, *Corythomantis apicalis* Miranda-Ribeiro, 1920, *Aparasphenodon apicalis* (Miranda-Ribeiro, 1926) e *Corythomantis adspersa* Lutz, 1925, nomes que foram criados com base em indivíduos jovens de *A. brunoi*, e que foram válidos durante quase duas décadas, até que grandes séries de jovens e adultos fossem estudadas e comparadas (Carvalho, 1941).

Recentemente, com a reformulação da Lei Biogenética de von Baer (Nelson, 1978), ressuscitou-se não só a utilização da ontogenia nas reconstruções filogenéticas, como também as discussões sobre as relações entre ontogenia e sistemática (ver Weston, 1988 e referências). Entretanto, do que se pode depreender destes trabalhos, eminentemente teóricos, nosso conhecimento atual do desenvolvimento se baseia em um corpo de informações ainda muito reduzido.

O desenvolvimento morfológico dos anfíbios anuros encontra-se minuciosamente descrito em trabalhos mais antigos (ver de Beer, 1937 e referências), nos quais praticamente todo o conhecimento atual do grupo se baseia (ver Duellman e Trueb, 1986). Esses estudos, que em sua maioria descreveram aspectos do desenvolvimento no gênero *Rana*, não representam de forma alguma a grande diversidade de formas exibidas pelos anfíbios anuros.

Com as modernas propostas na área de estudos da biologia comparada, seja com a finalidade de se estabelecer padrões de relacionamento entre os organismos (Rippel, 1988) ou de se compreender os mecanismos evolutivos em si (Gould, 1977), os estudos dos ciclos de vida reassumem um importante papel na biologia moderna. E do acúmulo de mais informações nesta área do conhecimento dependerá um entendimento mais refinado do que hoje entendemos como evolução.

## 2. OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo principal descrever a sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos de *Aparasphenodon brunoi*, e desta forma contribuir para futuros estudos morfológicos comparativos entre as espécies de Hylidae. São também apresentados a descrição morfológica externa da larva, as estruturas cartilaginosas do condrocrânio em diferentes estágios de desenvolvimento e a redescrição do crânio na fase adulta (Trueb, 1970a).

Pretende-se, ainda, reexaminar o processo de co-ossificação descrito por Trueb (1966) para as espécies que, como *A. brunoi*, apresentam os ossos do teto craniano ornamentado. Para isto será acompanhado, macro e microscopicamente, o desenvolvimento dos ornamentos na superfície dos ossos cranianos.

### **3. HISTÓRICO**

#### ESTUDOS DA SEQUÊNCIA DE OSSIFICAÇÃO CRANIANA EM ANFÍBIOS ANUROS

Os trabalhos que abordaram o desenvolvimento nos anfíbios anuros podem ser divididos em dois conjuntos principais. O primeiro tratou das transformações que ocorrem nos girinos, do nascimento (e em alguns casos da fecundação) até a metamorfose propriamente dita. Nestes foram descritas diferentes fases do desenvolvimento das estruturas larvais (ver de Beer, 1937; van Eeden, 1951; van der Westhuizen, 1961; Jacobson, 1968; e referências). O segundo conjunto de trabalhos abordou o processo de ossificação, principalmente craniana, tratando não somente da determinação de homologias, mas também, e principalmente, da descrição da sequência de aparecimento dos ossos. Nestes trabalhos a importância do fenômeno de heterocronia na evolução do grupo foi, por via de regra, abordado.

Como no presente trabalho abordam-se mais profundamente fenômenos relacionados com o desenvolvimento dos ossos cranianos, somente os trabalhos referentes a este tema são tratados, e apenas os estudos mais antigos, anteriores a de Beer (1937), não são referidos separadamente, em virtude de terem sido exaustivamente revistos e criticados por este autor.

De Beer (1937) estudou o desenvolvimento do crânio dos vertebrados. Suas descrições representam um vasto trabalho de compilação, dos mais importantes trabalhos realizados até então, e algumas observações originais. Todas as ordens de vertebrados foram estudadas, com descrições detalhadas do desenvolvimento do condrocrânio e do osteocrânio e discussões sobre a homologia das estruturas consideradas problemáticas.

A seção que trata do desenvolvimento dos anfíbios anuros foi desenvolvida a partir de estudos realizados com *Rana temporaria* (= *R. fusca*) por Dugés (1834) e Gaupp (1904 e 1906), complementada com observações do próprio autor e com descrições presentes em Parker (1871, 1876, 1881) e Erdmann (1933). *Alytes* e *Bombina* (= *Bombinator*, Discoglossidae), *Megophrys* (= *Megalophrys*, Pelobatidae), *Ascaphus* (Ascaphidae), *Leiopelma* (Leiopelmatidae) e *Xenopus* (Pipidae) foram também estudados, embora mais sucintamente.

Nas seções finais discuti a evolução do crânio dos vertebrados, as questões de determinação de homologias entre algumas cartilagens e ossos e o efeito da heterocronia na diversificação das formas cranianas.

Eaton (1939) reestudou o desenvolvimento do frontoparietal em anuros com base em *Rana calamita* (Ranidae), *Bufo californicus* (Bufonidae) e *Scaphiopus hammondi* (Pelobatidae), para os quais um único centro de ossificação foi observado. Estas observações foram consideradas contraditórias com os resultados apresentados por Parker (1871) e autores subsequentes, que haviam encontrado dois centros de ossificação distintos, um para o frontal e outro para o parietal, que logo após o início da ossificação tornam-se unidos. A homologia do complexo "frontoparietal" nos anuros foi considerada uma questão provisoriamente sem solução até que informações paleontológicas estivessem disponíveis.

Lynn (1942) descreveu o desenvolvimento embriológico de *Eleutherodactylus nubicola* (Leptodactylidae), sendo esta a única informação disponível sobre o desenvolvimento do crânio para anfíbios anuros com desenvolvimento direto. Utilizou Sampsom (1904) para a classificação dos estágios de desenvolvimento, e descreveu a sequência de ossificação com base em apenas 3 estágios de desenvolvimento, o que de certo modo, limita a utilização de seus resultados.

Griffiths (1954) acompanhou o desenvolvimento do frontoparietal em 29 espécies, de 12 gêneros, de oito diferentes famílias de anuros. Em doze das espécies estudadas o frontal surgiu independentemente do parietal, ocorrendo posteriormente a completa fusão entre as duas peças. A partir das informações ontogenéticas, paleontológicas e de anatomia comparada apresentadas, sugeriu não haver evidências do desaparecimento de nenhum dos centros de ossificação, e recomendou a utilização do termo frontoparietal sem distinção quanto ao número de centros de ossificação envolvidos.

Stokey e List (1954) descreveram a sequência de ossificação craniana em 23 exemplares de *Pseudacris nigrita*, um hilídeo com o desenvolvimento larvar muito acelerado. Os estágios de desenvolvimento dos girinos foram identificados segundo Taylor e Kollros (1946), sendo os exemplares utilizados subdivididos em grupos de dias após terem atingido o estágio XX deste sistema (emergência das patas dianteiras). Em cada estágio os ossos presentes foram assinalados e comparados à sequência de ossificação descrita para *Rana* por Erdmann (1933) e *Eleutherodactylus* por Lynn (1942).

Ramaswami (1956) descreveu o aparecimento do frontoparietal em *Pipa carvalhoi* (Pipidae) como único e mediano, ressuscitando a discussão sobre o número de centros de ossificação e a homologia entre o frontal, o parietal e o frontoparietal nos anuros.

Lebedkina (1960) investigou as transformações ocorridas nos ossos do teto craniano durante a evolução dos tetrápodos, referindo-se aos crossopterigianos como os mais prováveis ancestrais do grupo. Um modelo de relação mecânica entre o pré-maxilar e os ossos adjacentes, principalmente o frontal, foi apresentado e discutido com base no desenvolvimento das larvas de urodelos e anuros. As prováveis

implicações adaptativas desta relação durante a evolução do grupo foram também ressaltadas.

De Jongh (1968) acompanhou o desenvolvimento morfológico do condrocrânio de *Rana temporaria* (Ranidae), enfatizando as mudanças funcionais do aparato bucal no decorrer da metamorfose. Descreveu minuciosamente as transformações do condrocrânio e da musculatura craniana para diferentes estágios de desenvolvimento, a sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos e as comparou com as descrições existentes para o gênero. Os diferentes estágios de desenvolvimento dos girinos foram classificados segundo Kopsch (1952 *apud* de Jongh, 1968).

Duellman e Trueb (1966) reviram a sistemática do gênero *Smilisca* (Hylidae), com base em estudos morfológicos das larvas e adultos. Neste mesmo trabalho descreveram a sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos de *Smilisca baudinii*. O estudo baseou-se em 12 exemplares, nos estágios 40 e 44 de Gosner (1960) e em cinco classes de tamanho após a metamorfose.

Trueb (1966) descreveu a sequência de aparecimento e a morfologia dos ossos cranianos de *Osteopilus septentrionalis* (Hylidae) a partir de girinos no estágio 45 de Gosner (1960) e jovens recém-metamorfoseados. O principal objetivo do trabalho foi descrever ao nível histológico a morfologia e a gênese dos ornamentos presentes em ossos do crânio da espécie. O termo "co-ossificação", largamente empregado para se referir a esta morfologia, foi definido. Em função do processo de co-ossificação, a superfície dorsal do esfenetmóide foi apresentada como uma neoformação e recebeu nome distintivo - esfenetmóide dérmico - por se tratar de ossificação de origem dérmica e não cartilaginosa como o esfenetmóide.

Altig (1969) descreveu sumariamente o desenvolvimento dos ossos cranianos de *Ascaphus truei* (Ascaphidae), com os estágios de



desenvolvimento dos girinos classificados segundo Gosner (1960). Ao comparar a sequência encontrada com as descritas para o gênero *Rana*, considerou o retardamento da ossificação de alguns elementos do crânio e a absorção tardia da cauda em *Ascaphus truei* como adaptações ligadas à sobrevivência das larvas desta espécie aos ambientes de corredeira.

Kemp e Hyot (1969) descreveram a sequência de aparecimento de todos os ossos do esqueleto de *Rana pipiens* (Ranidae), utilizando girinos obtidos em laboratório e no campo. A sequência de ossificação foi correlacionada com os estágios de desenvolvimento da tabela de Taylor e Kollros (1946), que foi considerada suficientemente detalhada para este tipo de estudos. A importância e o papel dos hormônios e dos processos epigenéticos como determinantes das diferentes sequências de ossificação foram discutidos.

Trueb (1970a) descreveu a morfologia e as relações entre os ossos cranianos, para alguns Hylidae da subfamília Hyalinae que apresentam a superfície dorsal dos ossos cranianos ornamentados. As descrições basearam-se principalmente nos crânios de *Smilisca baudini*, *Osteopilus septentrionalis*, *Trachycephalus nigromaculatus*, *T. jordani*, *Osteocephalus taurinus*, *Triprion petasatus*, *T. spatulatus*, *Corythomantis greeningi*, *Pternohyla fodiens*, *P. dentata* e *Aparasphenodon brunoii*, e teve como objetivo principal estabelecer as relações filogenéticas entre as espécies deste grupo. A descrição da sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos de *Triprion petasatus* foi também apresentada e comparada com as sequências descritas para *Smilisca baudini* e *Hyla septentrionalis* (= *Osteopilus*), e discutiu-se o papel da heterocronia na diversificação morfológica dos anuros.

Gaudin (1973) descreveu a sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos em *Hyla regilla* (Hylidae) através do estudo de girinos e jovens

recém-metamorfoseados. Todas as larvas e parte dos recém-metamorfoseados foram obtidos de fecundação realizada em laboratório e o restante dos recém-metamorfoseados em duas localidades distintas. A ordem de aparecimento dos ossos foi comparada com as descritas na literatura para outras espécies, e discutiu-se a importância da heterocronia (pedomorfose) na regulação das sequências de desenvolvimento em função de variáveis ambientais.

Gaudin (1978) descreveu a sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos de *Bufo boreas* (Bufonidae) a partir de larvas e pós-metamorfoseados, obtidos em laboratório e coligidos em duas localidades diferentes. A sequência de ossificação não diferiu muito das apresentadas para outros anuros; no entanto, registrou-se uma variação significativa no tempo de aparecimento dos ossos entre as amostras estudadas.

Hanken e Hall (1984) descreveram a sequência de ossificação dos ossos cranianos de *Bombina orientalis* (Discoglossidae), utilizando animais criados em laboratório em diferentes estágios de desenvolvimento (36 - 46), classificados segundo Gosner (1960). A sequência de ossificação não se mostrou relacionada com a morfologia externa nos diferentes estágios de Gosner, apresentando algumas diferenças quando comparada com as descritas para *Rana* e *Bufo*.

Trueb (1985) apresentou os dados disponíveis sobre sequências de ossificação craniana em anuros, e sua descrição para *Rhinophrynus dorsalis* (Rhinophrynidae). As sequências de desenvolvimento descritas para 18 espécies de anfíbios anuros foram analisadas e discutidas. Encontrou-se coerência entre os ossos que aparecem antes, durante e após a metamorfose para os diferentes grupos, e discutiu-se a possibilidade de perturbações heterocrônicas nos padrões ontogenéticos causarem desvios no padrão mais comum de desenvolvimento.

Rocek (1986) estudou o desenvolvimento de alguns elementos cranianos em *Xenopus laevis*, *Pipa pipa*, *Pipa carvalhoi* (Pipidae) e *Pelobates fuscus* (Pelobatidae) a fim de determinar as "tendências" e a direção dos processos envolvidos na evolução dos anfíbios a partir de peixes de nadadeiras lobadas (crossopterígeos).

De Sá (1988) descreveu o condrocrânio, o aparelho hyobranchial e a sequência de ossificação (para todo o esqueleto) de *Hyla lanciformis* (Hylidae) através do estudo de sete recém-metamorfoseados e 20 girinos em diferentes estágios de desenvolvimento (26 - 44), classificados segundo Gosner (1960). A sequência encontrada foi comparada com as sequências anteriormente descritas que fizeram referência ao uso da tabela de Gosner na classificação dos estágios e discutiu-se, com base na hipótese de função adaptativa das ossificações durante o desenvolvimento, a possibilidade de enganos nas sequências de ossificação descritas para outras espécies.

Hanken e Hall (1988) descreveram ao nível histológico o desenvolvimento dos exoccipitais, do parasfenóide e dos frontoparietais em *Bombina orientalis* (Discoglossidae) e observaram que os centros de ossificação destes ossos já se encontram completamente diferenciados seis estágios de Gosner (1960) antes de poderem ser observados em preparações diafanizadas e coradas com alizarina. Seus resultados são considerados significantes no reconhecimento de que: os eventos de diferenciação das células osteoprogenitoras ocorrem muito mais cedo do que se imaginava durante o desenvolvimento dos anfíbios anuros; estes eventos ocorrem durante os estágios pré-metamorfose, caracterizados por apresentarem poucas mudanças morfológicas; e duas fases estão sujeitas à alterações heterocrônicas: a diferenciação e o crescimento. Suas observações limitam

o valor das descrições da sequência de desenvolvimento osteológico obtidas por intermédio das diafanizações.

Smirnov (1989) estudou a ontogenia de algumas estruturas do crânio de *Bombina orientalis* (Discoglossidae), uma espécie aquática de anfíbio anuro que retém após a metamorfose alguns caracteres larvais (como por exemplo o sistema de linhas laterais), e discutiu a possibilidade de retenção destes caracteres nos adultos (pedomorfose) através do retardamento do desenvolvimento somático (neotenia).

Rocek e Vesely (1989) discutiram a homologia para alguns caracteres ligados à região etmoidal do endocrânio de *Pipa pipa* (Pipidae), baseando-se no estudo da ontogenia de oito diferentes estágios de desenvolvimento desta espécie, classificados segundo Nieuwkoop e Faber (*apud* Rocek e Vesely, 1989). Entre as principais conclusões apresentadas, sugeriram não haver relações de homologia para os caracteres desta região do crânio entre os pipídeos e os outros anuros.

Davies (1989) descreveu a sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos durante a metamorfose de *Uperoleia trachiderma*, em pré e pós-metamorfose de *U. lithomoda*, *Crinia signifera* e *Pseudophryne bibroni*, e após a metamorfose de *U. laevigata*, todos Leptodactylidae - Myobatrachinae, e ainda o condrocrânio de *U. lithomoda* nos estágios 33 e 40, classificados segundo Gosner (1960). A importância do conhecimento prévio das relações filogenéticas na interpretação dos processos evolutivos e o papel da heterocronia na evolução de algumas espécies do grupo são discutidos.

Wiens (1989) estudou a ontogenia do esqueleto do pelobatídeo *Spea bombifrons* e redefiniu certos caracteres utilizados na sistemática do grupo, que não apresentavam seu desenvolvimento satisfatoriamente

compreendidos. São também descritas as mudanças ocorridas no condrocrânio durante a metamorfose e algumas transformações nos elementos ósseos durante o desenvolvimento.

Smirnov (1990) retomou o estudo do desenvolvimento de *Bombina orientalis* (Discoglossidae) e tentou demonstrar, através da comparação com gêneros considerados próximos, que a retenção de caracteres juvenis nesta espécie aconteceu por retardamento do desenvolvimento somático ou neotenia.

## **4. CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **4.1. O TECIDO ÓSSEO**

As principais células envolvidas na formação dos esqueletos nos vertebrados são: os condroblastos, os osteoblastos, as células de revestimento ("lining cells"), os osteoclastos e os osteócitos (Marks e Popoff, 1988). Osteoclastos, células de revestimento, e osteócitos derivam de células mesenquimais chamadas osteoprogenitores, enquanto os osteoblastos derivam da fusão de células sanguíneas mononucleares. Os osteoblastos elaboram a matriz óssea (osteóide), que mais tarde se torna calcificada sob sua influência. Alguns osteoblastos são envolvidos por matriz calcificada, sendo então denominados osteócitos. Os osteócitos ocupam espaços (lacunas) no interior dos ossos e estão conectados às células adjacentes por meio de numerosas projeções citoplasmáticas no interior de canais (canalículos), através da matriz mineralizada. Os osteoclastos são células grandes, multinucleadas responsáveis pela absorção dos ossos e das cartilagens mineralizadas, localizadas na superfície dos ossos próximas a um vaso sanguíneo. As células de revestimento são células achatadas, finas e alongadas que cobrem a maior parte das superfícies ósseas nos esqueletos adultos. Possuem poucas organelas, são inativas e estão associadas aos ossos que não estão em crescimento ou sofrendo reabsorção. Pouco se sabe sobre este tipo celular, embora especule-se que sejam progenitores potenciais de osteoblastos, sirvam como barreira seletiva para os ossos ou regulem o crescimento dos cristais nos ossos.

Dois processos são comumente descritos para a formação dos ossos nos esqueletos dos vertebrados: a ossificação membranosa ou

intramembranosa e a ossificação em cartilagem ou endocondral (ver de Beer, 1937 e Patterson, 1977). Os ossos pré-formados em cartilagem são reconhecidos como ossos de cartilagem ("cartilage bones"), e aqueles com origem ligada à derme, ossos dérmicos ou de membrana. A extensão destes conceitos conduziu à classificação dos ossos em dois grandes grupos, ossos de cartilagem e ossos de membrana ou dérmicos, embora existam sugestões para que estes dois últimos termos sejam utilizados distintamente (Patterson, 1977).

#### 4.2. OSSIFICAÇÃO INTRAMEMBRANOSA

Assim chamada por ter início no interior de membranas de natureza conjuntiva. Nos anfíbios anuros é o processo formador do frontoparietal, nasal, pré-nasal, maxilar, septomaxilar, pré-maxilar, vômer, parasfenóide, quadradojugal, esquamosal, palatino, pterigóide, angular e dentário (de Beer, 1937; Duellman, 1970; Trueb, 1973).

O local da membrana conjuntiva, onde a ossificação tem início, é denominado centro de ossificação primária ou simplesmente centro de ossificação. Em geral cada centro de ossificação dará origem a uma peça óssea que permanecerá individualizada, mas dois centros distintos de ossificação podem se unir e formar uma peça única. Este é o caso, por exemplo, do frontal e do parietal em algumas espécies de anfíbios anuros (Griffiths, 1954).

#### 4.3. OSSIFICAÇÃO ENDOCONDRA

Tem início sobre uma peça de cartilagem hialina, de forma semelhante ao osso que irá se formar. No crânio dos anfíbios anuros este é o processo formador do mentomeckeliano, proótico, esfenetmóide, exoccipital e columela (de Beer, 1937; Duellman, 1970; Trueb, 1973). A ossificação endocondral consiste essencialmente de duas etapas. Primeiro a cartilagem hialina sofre modificações, havendo hipertrofia dos condrócitos, que acabam morrendo e deixando cavidades separadas por finos tabiques de matriz cartilaginosa, que se calcificam assim que morrem os condrócitos. Posteriormente, as cavidades da cartilagem calcificada são invadidas por capilares sangüíneos e células mesenquimais indiferenciadas, vindas do tecido conjuntivo adjacente. Estas células darão origem aos osteoblastos, que depositarão matriz óssea sobre os restos de cartilagem calcificada, num processo essencialmente similar ao dos ossos de membrana. Deste modo, aparecerá tecido ósseo onde antes havia tecido cartilaginoso, sem que um se transforme no outro.

#### 4.4. ORNAMENTAÇÃO DA SUPERFÍCIE OSSEA

A superfície externa de alguns ossos pode apresentar algumas modificações estruturais. Espinhos, cristas ou escarificações podem estar presentes ornamentando os ossos de origem dérmica, como os formadores do teto craniano (Trueb, 1973), ou os de origem cartilaginosa (Coldiron, 1974).

Entre os vertebrados atuais, os crocodilianos e alguns anfíbios anuros apresentam em alguns de seus ossos mudanças bastante nítidas na aparência da superfície. Tais modificações podem também ser encontradas



em alguns peixes e tartarugas, embora mais raramente. Estes ornamentos também são comuns entre algumas formas extintas de anfíbios, como por exemplo os Labirintodontes, o que levou alguns autores a sugerir que este caráter indicasse o grau de "primitividade" no grupo (Coldiron, 1974).

A presença destes ornamentos, que geralmente estão associados ao espessamento dos ossos e à diminuição da vascularização do epitélio adjacente, foi relacionada com o reforço mecânico do crânio (Coldiron, 1974), e sugerida como adaptação contra dessecação em anfíbios de ambientes semi-áridos (Trueb 1966, 1970a; Seibert *et al.*, 1974).

Em relação aos ornamentos presentes no crânio dos crocodilianos e labirintodontes, Coldiron (1974) sugere a existência de dois tipos básicos: escarificações agrupadas e cristas interconectadas distribuídas aleatoriamente, ou cristas mais longas e escarificações orientadas radial ou longitudinalmente a centros de ossificação. Segundo o mesmo autor, pode-se ainda encontrar mais raramente padrões como depressões isoladas em superfícies uniformes, cristas aleatoriamente distribuídas, rugosidades e projeções em forma de chifres.

A gênese destes ornamentos em crocodilianos e labirintodontes foi estudada por Buffrénil (1982), que a descreveu como um processo dinâmico com reabsorções e reconstruções diferenciais da superfície dos ossos. O processo tem início após a ossificação, quando osteoclastos, que são as células responsáveis pela reabsorção óssea, surgem e se tornam ativos, iniciando então uma sequência de reabsorções e remodelamento da superfície óssea em diferentes pontos, resultando por fim no padrão observado.

Entre os anfíbios anuros atuais a grande maioria não apresenta ossos com ornamentos (Duellman e Trueb, 1986). Representam exceções algumas espécies das famílias Brachycephalidae, Bufonidae, Hylidae,

Leptodactylidae, Myobatrachidae, Pelobatidae e Ranidae (Trueb, 1973). Quando a ornamentação está presente, o frontoparietal, o nasal, o pré-maxilar, o maxilar, o pré-nasal, o intra-nasal, a superfície dorsal do esfenetmóide e o esquamosal podem estar envolvidos.

Nestas espécies costumou-se adotar a classificação dos ornamentos proposta por Trueb (1973), que os subdividiu em três tipos básicos, exostose, "encarapacamento"<sup>1</sup> e co-ossificação, e assim os descreveu:

**EXOSTOSE.** Condição morfológica onde osso de membrana adicional é depositado sobre os elementos dérmicos do crânio, formando cristas e espinhos. Ocasionalmente, exostose produz um simples espinho ósseo no crânio, como em *Anotheca* (Hylidae) porém, mais comumente, resulta em um padrão simples e reticulado de deposição óssea na superfície dos ossos dérmicos após a metamorfose. A proliferação óssea em determinadas áreas resulta em alguns padrões bastante familiares, como as cristas e canais presentes nos bufonídeos. Deposição óssea adicional e subsequente modificação resulta em padrões mais intrincados de esculturação dérmica. Assim, o complicado sistema de espinhos e cristas radiadas característicos de *Tripurion*, *Trachycephalus* e *Aparasphenodon* (Hylidae) são refinamentos do padrão reticular generalizado primariamente estabelecido na ontogenia da espécie.

**"ENCARAPACAMENTO".** Envolve a extensão ou proliferação dos ossos dérmicos, formando uma carapaça ou capacete como em *Ceratobatrachus* (Ranidae) ou em *Hemiphractus* (Hylidae). Esta condição é expressa em ossos como o esfenetmóide dérmico, o internasal, o pré-nasal, na formação das abas labiais do maxilar e nas extensões marginais do

---

<sup>1</sup> Em inglês, "casquing".

nasal, frontoparietal e esquamosal. O "encarapaçamento" parece sempre ocorrer associado a exostose e a um padrão de ornamentação dérmica.

**CO-OSSIFICAÇÃO.** Sempre acompanhada de algum grau de exostose ou "encarapaçamento". Envolve a integração da pele sobre os ossos dérmicos na estrutura óssea, de modo que a pele se funde aos ossos a que sobrepõe. Co-ossificação predomina entre as formas de ambientes áridos e semi-áridos e entre espécies de copa de árvores.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

O material estudado compreendeu girinos e recém-metamorfoseados, coletados nos Municípios de Maricá (RJ) e Arraial do Cabo (RJ), e adultos coletados no município de Maricá (RJ). Os exemplares coletados em Maricá (RJ) estão depositados na coleção do Museu Nacional do Rio de Janeiro (MNRJ), e os de Arraial do Cabo (RJ) na coleção do Prof. Sérgio Potsch de Carvalho e Silva (SPCS), Rio de Janeiro. A identificação dos girinos foi garantida criando-se alguns exemplares em laboratório até que atingissem a metamorfose.

Os girinos foram medidos com paquímetro, com aproximação de centésimo de milímetro. As medidas obtidas basearam-se em Altig e Johnston (1986) e foram as seguintes: comprimento total (CT); comprimento do corpo (CC); largura da musculatura caudal (LC); altura da nadadeira (AN); distância entre as narinas (IN); distância entre a narina e o olho (NO) e distância entre os olhos (DO).

Para classificação dos estágios de desenvolvimento até a metamorfose, utilizou-se a tabela de classificação de Gosner (1960). Para efeito de descrição, os estágios foram ainda reunidos em grupos pré-metamorfose, na metamorfose e pós-metamorfose, através da observação de alguns caracteres externos conforme Trueb (1985). Após a metamorfose os animais foram subdivididos em classes pelo grau e extensão da superfície ornamentada observada externamente.

Para a descrição morfológica externa das larvas utilizou-se um girino no estágio 36 e seguiu-se as recomendações propostas por Altig e Johnston (1986). Os ossos e cartilagens foram descritos com base em material diafanizado e corado por alizarina e azul alciano, seguindo-se a

metodologia descrita em Taylor e Van Dyke (1985), diferindo apenas na substituição da tripsina por pancreatina durante o processo de maceração.

A nomenclatura utilizada para o sistema de linhas laterais segue Noble (1931), a nomenclatura osteológica, Trueb (1973), e a do condrocrânio foi uma combinação do que está presente em de Beer (1937), de Jongh (1968) e Sokol (1981).

As descrições do condrocrânio foram principalmente baseadas em exemplares no estágio 37, mas mudanças que ocorreram em estágios mais jovens e mais adiantados (durante e após a metamorfose) são também fornecidas.

Procedeu-se à descrição da sequência de aparecimento dos ossos de modo a fornecer informações não só do estágio em que cada peça óssea surgiu, como também do desenvolvimento dos ossos, das relações entre os diferentes ossos e destes com as peças cartilaginosas do condrocrânio.

Paralelamente aos estudos do desenvolvimento dos ossos cranianos, desenvolveu-se o estudo histológico da formação das cristas e espinhos que ornamentam a superfície dos ossos do teto craniano de *Aparasphenodon brunoí*. Para isto, selecionou-se um grupo de 5 exemplares jovens (recém-metamorfoseados) e 3 adultos para a preparação de lâminas histológicas. Suas cabeças foram seccionadas e descalcificadas em ácido nítrico 5%, durante 24hs (Baldauf e Tanzar, 1965), e uma seção que compreendeu o parasfenóide, os nasais e os frontoparietais foi submetida ao procedimento histológico padrão, com preparação de cortes com espessura de 7 $\mu$ m, montagem de lâminas e coloração por hematoxilina e eosina, para observação sob microscópio óptico.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. O GIRINO DE *APARASPHENODON BRUNOI* (fig. 1A)

A descrição morfológica externa do girino baseou-se em um exemplar no estágio 36. Medidas para outros exemplares, em diferentes estágios, estão presentes nas Tabelas I e II.

**Descrição:** CT 47,0mm; CC 16,8mm; AN 12,5mm; LC 4,3mm; IN 5,0mm; DO 8,0mm; NO 2,0mm. Corpo ovalado em vista lateral. Olhos em posição lateral, ligeiramente voltados para cima, apresentando cor de cobre quando em vida. Narinas em posição dorsal, diminutas e ovaladas, aproximadamente equidistantes entre os olhos e a extremidade do focinho. Espiráculo esquerdo, curto e ligeiramente inclinado para cima, situado no terço médio posterior do corpo. Tubo anal mediano, aderido à nadadeira e com abertura voltada para baixo. Cauda com a porção anterior não muito mais alta que o corpo e afilada na extremidade, sem formar um flagelo. Musculatura caudal bem desenvolvida e ligeiramente curvada para cima, apresentando uma ligeira depressão mediana no terço anterior. Nadadeira dorsal ligeiramente mais larga que a ventral, originando-se no terço médio posterior do corpo. Boca ântero-ventral, com papilas nas margens laterais e ventrais em fileiras compostas, algumas mais internas em grupos ou isoladas. Bicos córneos inferior e superior serrilhados. Série de dentículos distribuídos em duas fileiras superiores, com a primeira interrompida, e em cinco fileiras inferiores, com a primeira também interrompida; algumas das papilas internas, nas bordas laterais podem também apresentar pequenas séries de dentículos (fig. 1B).

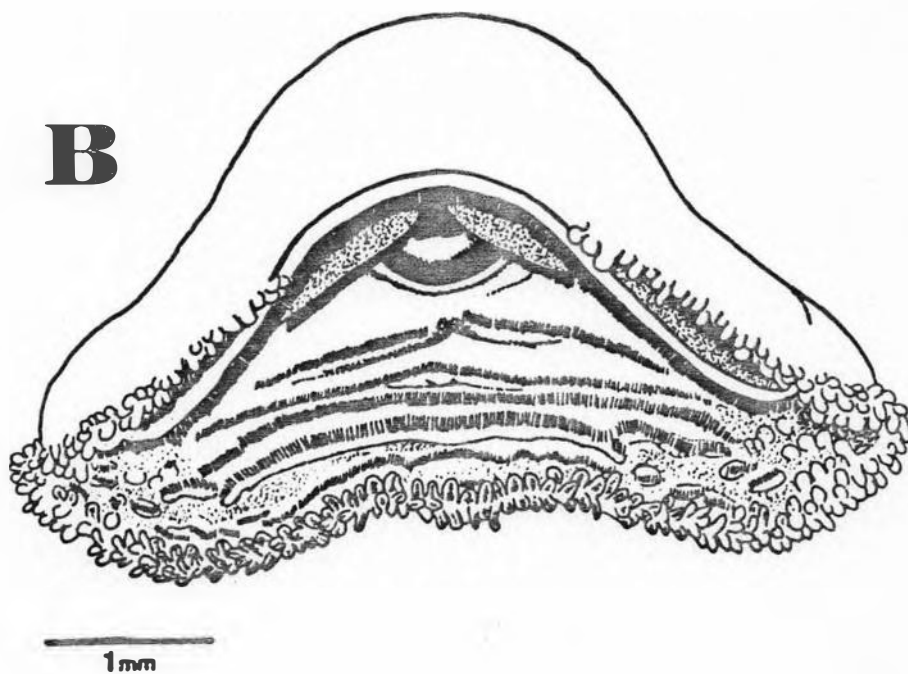
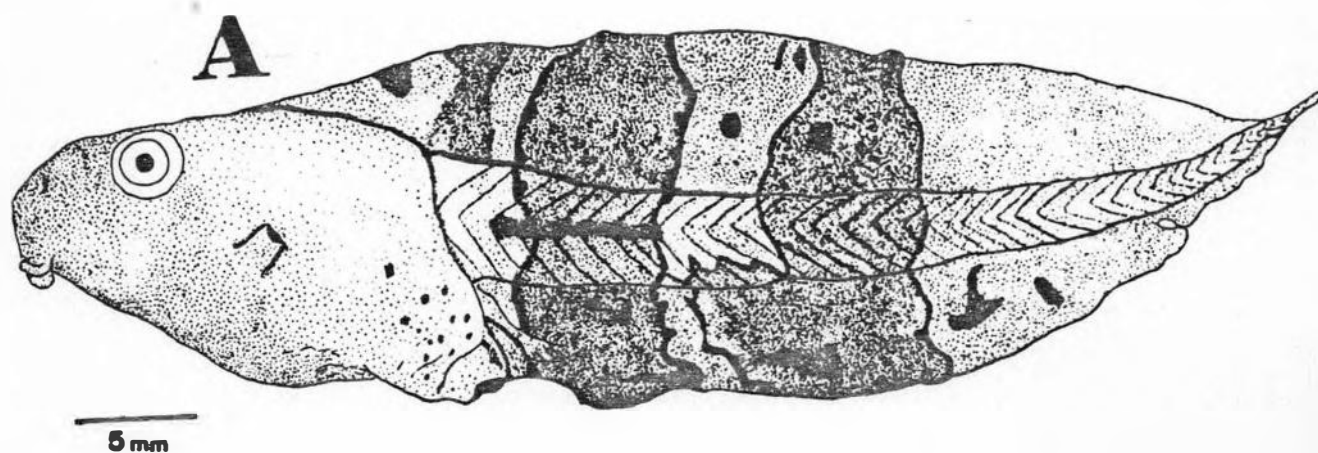
**Colorido:** o colorido geral do girino é castanho escuro, apresentando manchas irregulares ao longo do corpo e barras transversais com

tonalidade mais clara ao longo da cauda. A região abdominal, entre o espiráculo e o tubo anal, apresenta colorido azul iridescente e é tão pigmentada que não permitiu a observação do tubo digestivo.

**Sistema de linhas laterais:** em pequenos aumentos, foi possível observar um sistema de linhas laterais compostas pelo ramo lateral, presente ao longo da musculatura caudal e no dorso do corpo, ramos infra e supra-orbital, ramo ventral, na região abdominal posterior, e ramo angular, entre a boca e o espiráculo (fig. 2).

**Variações:** observou-se variação no número de fileiras de dentículos inferiores, que podem ser cinco ou seis; no colorido da cauda, que pode não apresentar barras, sendo castanho escuro, com manchas irregulares. Os animais após longa fixação podem perder o colorido da cauda e a iridescência, tornando-se castanho uniforme por todo o corpo ou ainda com barras translúcidas na cauda.

**Biologia:** as larvas coletadas na Restinga de Maricá (RJ) habitam poças temporárias, de águas rasas e escuras, com grande concentração de matéria orgânica, cujo pH pode variar de 4,5 a 6,0 durante o ano (Carmo e Lacerda, 1984). Estas poças são também criadouro de larvas de outras espécies de anuros, de uma espécie de peixe do gênero *Cynolebias* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) e de diversas espécies de insetos.



**Figura 1.** A. Girino de *Aparasphenodon brunoi* no estágio 36, B. detalhe da boca.

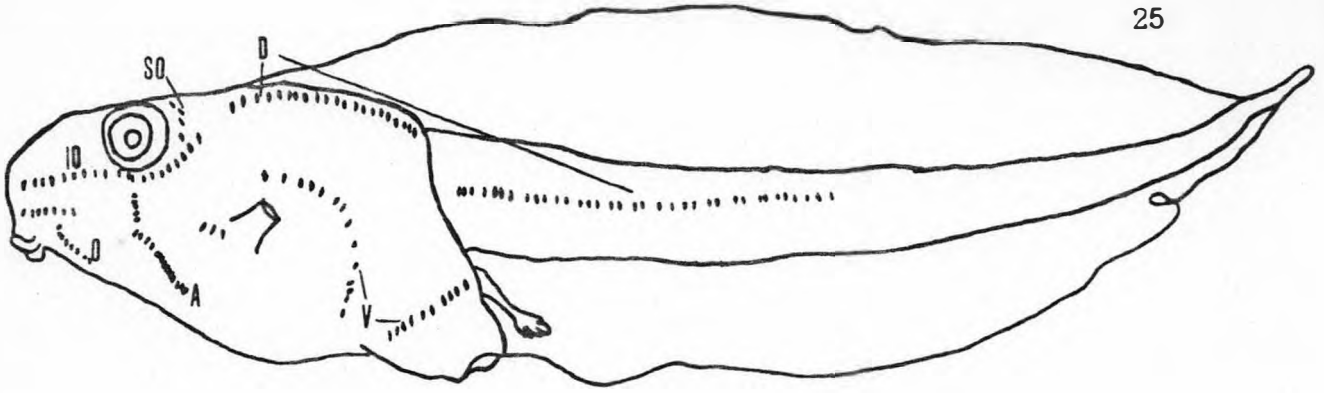


Estágio	CT	CC	AM	AN	DI	DIO	DNO
26	32,4	11,6	3,1	11,0	4,5	6,0	2,0
37	54,0	18,0	5,0	13,5	6,0	10,0	2,5
37	50,0	16,5	5,0	13,0	5,6	8,0	2,0
39	55,0	18,0	6,0	14,3	6,5	9,6	3,0
39	58,5	18,5	6,0	15,0	6,0	10,0	3,0
39	60,0	19,0	5,5	14,0	6,0	10,0	2,5
39	60,0	19,0	6,0	14,5	6,0	9,0	2,5
39	62,0	20,0	5,0	16,0	6,0	11,0	3,0
39	55,0	18,0	5,0	14,0	6,0	10,0	2,5
39	47,3	18,0	5,0	13,5	6,0	9,0	2,0
39	60,0	18,0	5,0	13,0	6,0	10,0	3,0
39	58,0	19,0	5,5	18,0	6,5	10,0	3,0
39	55,0	17,0	5,5	16,0	6,0	9,0	3,0
39	64,0	18,0	6,0	15,0	6,0	10,0	3,0
40	56,0	19,5	6,0	16,0	6,5	11,0	3,0
40	56,0	17,0	6,0	12,5	4,6	8,0	2,5
40	62,0	21,0	7,0	13,5	5,0	10,0	3,0
41	42,0	16,0	4,0	11,0	3,5	6,5	3,0
42	48,5	16,0	4,0	10,0	2,0	6,5	2,0

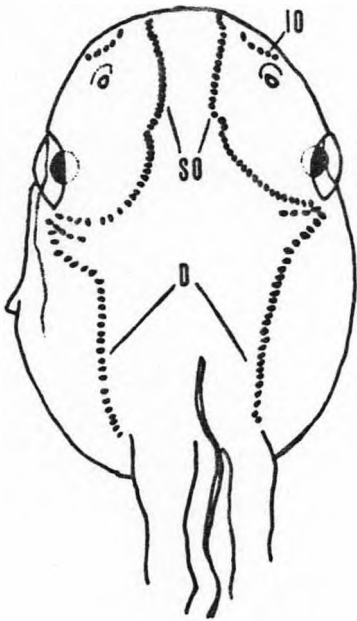
**Tabela I.** Medidas dos girinos (mm) de *Aparasphenodon brunoi* coletados em Arraial do Cabo (RJ) (SPCS lote 2041).

Estágio	CT	CC	AM	AN	DI	DOI	DNO
31	37,0	12,0	2,4	9,0	3,0	4,0	1,3
31	36,0	12,0	2,4	9,3	3,0	5,0	1,6
37	49,0	17,0	3,0	11,5	5,3	7,0	2,3
37	34,0	15,0	3,0	10,0	5,0	6,5	2,0
37	55,6	18,5	4,5	14,5	6,0	9,5	3,0
37	42,0	15,0	5,0	12,5	5,5	7,0	2,0
37	45,6	17,5	4,0	12,0	5,0	7,0	2,2
37	53,0	16,0	4,4	12,3	4,9	7,5	2,0
39	50,0	16,0	4,0	13,0	5,1	7,0	2,0
39	46,5	16,0	3,6	11,0	5,0	7,6	2,0
39	54,5	19,0	4,0	13,4	5,1	7,0	2,3
39	47,0	16,0	4,0	12,4	4,3	8,0	2,1
40	60,5	20,0	5,4	15,5	5,0	10,0	2,6
40	54,3	15,3	5,0	11,5	5,3	7,0	2,0
40	56,0	17,0	5,0	12,0	3,0	7,2	2,6
40	49,0	16,0	4,0	7,3	5,0	7,0	2,0
40	44,0	16,5	4,0	12,0	5,0	8,0	2,1
40	48,0	16,0	4,4	12,0	5,0	7,6	2,3

**Tabela II.** Medidas dos girinos (mm) de *Aparasphenodon brunoi* coletados na Restinga de Maricá (RJ).

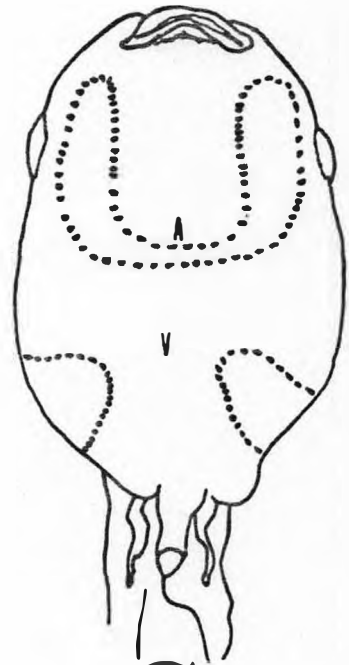


**A**



**B**

5mm



**C**

**Figura 2.** Representação esquemática do sistema de linhas laterais do girino de *Aparasphenodon brunoï* em **A.** vista lateral, **B.** dorsal e **C.** ventral. Abreviaturas: A, angular; D, dorsal; IO, infra-orbital; O, oral; SO, supra-orbital; V, ventral.

## 6.2. O CONDROCRÂNIO NO ESTÁGIO 37 (figs. 3 e 4A)

### Teto craniano

As estruturas cartilaginosas que envolvem o encéfalo do girino dorsalmente deixam entre si grandes espaços abertos, as fenestras frontal e parietal. A porção anterior da caixa craniana é limitada pela placa etmoidal, disposta verticalmente ao eixo principal do crânio. Esta placa possui dorsalmente uma projeção em forma de aba voltada para trás e está fronto-lateralmente perfurada pelos forâmens olfativos. Na porção posterior o crânio está limitado pelo teto sinótico, que é uma barra cartilaginosa larga e convexa, cuja borda posterior forma o limite superior do forâmen magno. Lateralmente a cartilagem orbital liga a placa etmoidal ao teto sinótico e de sua porção média desenvolve-se a *taenia tecti transversalis*. As margens da placa etmoidal, da cartilagem orbital e da *taenia tecti transversalis* limitam a fenestra frontal. Da porção média do teto sinótico desenvolve-se a *taenia tecti medialis* que se liga à *taenia tecti transversalis*, subdividindo a fenestra parietal.

### A cápsula auditiva

As cápsulas auditivas são ovaladas, aproximadamente esféricas, e delimitam a porção lateral posterior do crânio. São interligadas dorsalmente pelo teto sinótico e ventralmente pela placa basal. Nas bordas laterais superiores desenvolve-se a crista parótica, uma aba de contorno irregular com a porção anterior mais larga e projetando para frente um processo estreito e afilado. Na parede lateral da cápsula auditiva, um pouco abaixo da crista parótica, observa-se a fenestra oval.

### O complexo palatoquadrado

O palatoquadrado forma um arco lateral externo ao crânio que se estende das cápsulas auditivas até aproximadamente a porção anterior do crânio. Posteriormente está conectado ao crânio pelo processo ascendente, que se liga à frente do forâmen proótico, e pelo processo ótico larval, que é contínuo à porção anterior da crista parótica larval. Anteriormente, a conexão com o crânio se faz através da comissura quadradocranial anterior, que é larga, robusta e apresenta três pequenos processos: o pseudo-pterigóide, que aponta para o interior da fenestra subocular, um pequeno processo cartilaginoso, que aponta para o processo muscular e corresponde à porção proximal do ligamento "*tectum*" condrificada, e o pequeno processo antorbital, voltado para a frente. Lateralmente à comissura quadradocranial está presente o processo muscular, que é ovalado e bastante desenvolvido. Adiante da comissura quadradocranial e do processo muscular estende-se a porção articular do palatoquadrado, que é longa e plana.

### Região anterior do crânio

Os cornos trabeculares se projetam à frente da caixa craniana a partir da região etmoidal. São curtos, relativamente largos, e apresentam uma pequena expansão à frente da placa etmoidal antes de se bifurcarem. A porção anterior externa de cada corno trabecular avança além da porção interna e está ventro-lateralmente inclinada, o que confere à peça um contorno convexo em vista lateral.

A cartilagem supra-rostral é única e está articulada aos cornos trabeculares. Próximo a seu centro apresenta alguns orifícios que sugerem o crescimento e a fusão de partes antes separadas. O corpo principal da peça, localizado entre as extremidades anteriores dos cornos

trabeculares, é ligeiramente convexo e largo. As asas laterais são contínuas ao corpo principal da peça e se situam ligeiramente perpendiculares a ele.

A cartilagem de Meckel é aproximadamente cilíndrica e retorcida nas extremidades e transversalmente articulada à porção articular do palatoquadrado.

Cada metade das infra-rostrais tem a forma aproximada de um pequeno cachimbo, sendo o forninho a porção mais larga que articula as duas peças entre si. As peças se articulam com as cartilagens de Meckel e em conjunto com a supra-rostral formam o aparelho "mastigador" do girino.

#### Base e parede lateral do crânio

A base da caixa craniana é contínua e se estende da placa etmoidal até a placa basal, que recobre parcialmente as cápsulas auditivas. Em sua porção médio-posterior notam-se dois pares de pequenos forâmens - o crânio-palatino e o carótido primário. Em vista lateral a parede do crânio é perfurada pelos forâmens proótico, oculomotor, ocular e troclear.

### 6.3. OBSERVAÇÕES DO CONDROCRÂNIO EM OUTROS ESTÁGIOS

#### Estágio 36.

O condrocrânio no estágio 36 não apresentou os forâmens olfativos delimitados nem o processo pseudo-pterigóide. Os cornos trabeculares, a porção articular do quadrado, as cartilagens infra e supra-rostrais e de Meckel encontraram-se menos desenvolvidas, estando mais curtas e estreitas. Na superfície dorsal do crânio as *taenia tecti transversalis* e *medialis* ainda não estavam desenvolvidas, e no teto craniano observou-se

apenas uma larga fenestra frontoparietal. Na região entre o palatoquadrado e o processo ótico larval observou-se uma aba lateral irregular bastante desenvolvida, com um processo que parte de sua porção anterior apontando para trás (fig. 4B).

#### Estágios 39 e 40.

Não se observaram mudanças significativas nos estágios 39 e 40 quando comparados ao estágio 37, exceto a obliteração das fenestras parietais no estágio 40 pelo crescimento das cartilagens ao seu redor e pelo desaparecimento do processo pseudo-pterigóide e do processo que representava a condrificação da porção proximal do ligamento "*tectum*".

#### Estágio 42.

O processo antorbital encontrou-se bastante desenvolvido, projetando-se para frente e para baixo em direção à porção articular do quadrado (fig. 4C).

Na região anterior à placa etmoidal os cornos trabeculares perderam mais de um terço de seu tamanho e a cartilagem supra-rostral desapareceu, tendo início a formação das cápsulas nasais dos adultos. Nas superfícies dorsal e ventral dos cornos trabeculares desenvolveu-se o teto, o piso nasal, a cartilagem oblíqua e as cartilagens pré-nasal superior e inferior. A comissura quadradocranial e o processo pseudo-pterigóide desapareceram.

As infra-rostrais sofreram estreitamento, cresceram, se tornaram cilíndricas e se fundiram às cartilagens de Meckel, que também sofreram mudanças semelhantes na forma. Este conjunto permanece articulado à porção articular do quadrado, que também sofreu redução em tamanho. O processo muscular também se reduziu, perdendo aproximadamente um terço do

seu tamanho nos estágios anteriores. A porção posterior do palatoquadrado (arco subocular) apresentou uma pequena dobra, o que indica o início de um processo de reabsorção e remodelamento desta estrutura. A ligação processo ascendente-caixa craniana também se desfez e apenas o processo ótico larval permaneceu unindo o palatoquadrado à cápsula auditiva.

Na cápsula auditiva não ocorreram grandes mudanças externamente observáveis, a não ser o desenvolvimento do opérculo na porção posterior da fenestra oval.

#### Estágio 43.

As transformações mais expressivas neste estágio ocorreram na região do palatoquadrado. O processo antorbital cresceu ainda mais, sofreu rotação para trás e desenvolveram-se em sua extremidade os processos maxilar anterior e posterior. A comissura quadradocranial está livre da caixa craniana e a porção articular do quadrado, que também se reduziu, girou em aproximadamente 80° para trás. O processo muscular praticamente desapareceu, o que também ocorreu com o processo ascendente. A porção posterior do palatoquadrado apresentou mais dobras em seu eixo ântero-posterior, estando ainda mais curto. Na região nasal notam-se a crista subnasal, a cartilagem alar, o plano terminal e um eixo cartilaginoso ligando-o à continuação caudal do plano terminal (fig. 5).

#### Estágio 45.

Neste estágio os processos posteriores do palatoquadrado foram inteiramente reabsorvidos, não havendo mais ligações entre este e a caixa craniana ao nível da cápsula auditiva. O conjunto processo muscular, porção articular do quadrado e comissura quadradocranial foi inteiramente reabsorvido e deu lugar ao quadrado, que se posiciona ligeiramente à

frente da cápsula auditiva e está articulado com a cartilagem de Meckel. Na porção médio anterior do quadrado originou-se o processo pterigóide, que cresceu para frente do crânio e está unido ao processo maxilar posterior, com origem no processo antorbital.

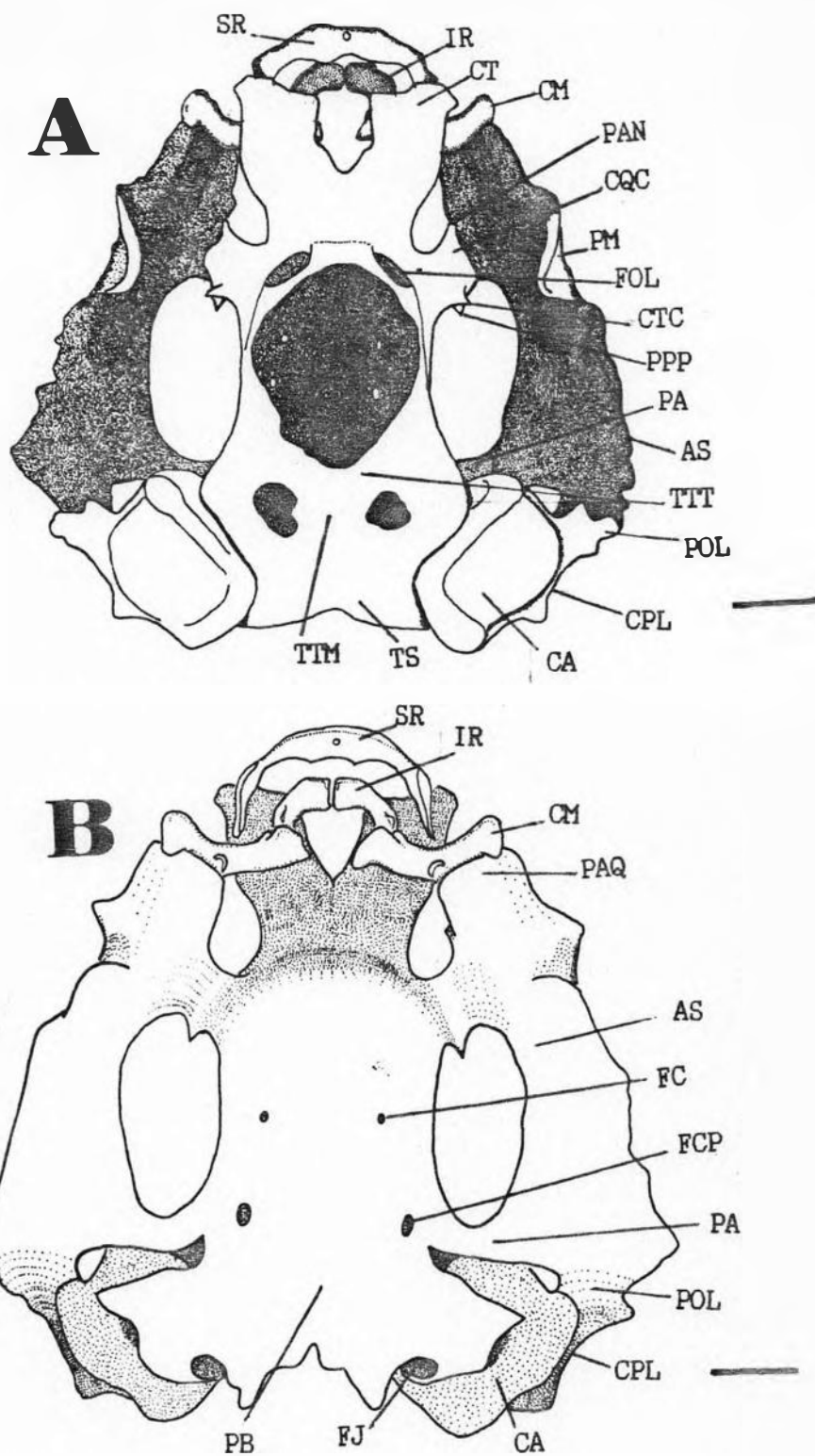
As cápsulas auditivas sofreram estreitamento ântero-posterior, e lateralmente já se podem notar as columelas ainda em cartilagem.

Outras mudanças destacáveis foram o crescimento das cartilagens das cápsulas nasais, o crescimento da cartilagem de Meckel, que agora forma um conjunto único com as infra-rostrais e presença da crista supra-orbital, que se originou na região posterior ao processo antorbital, e cresceu sobre o globo ocular (fig. 5B).

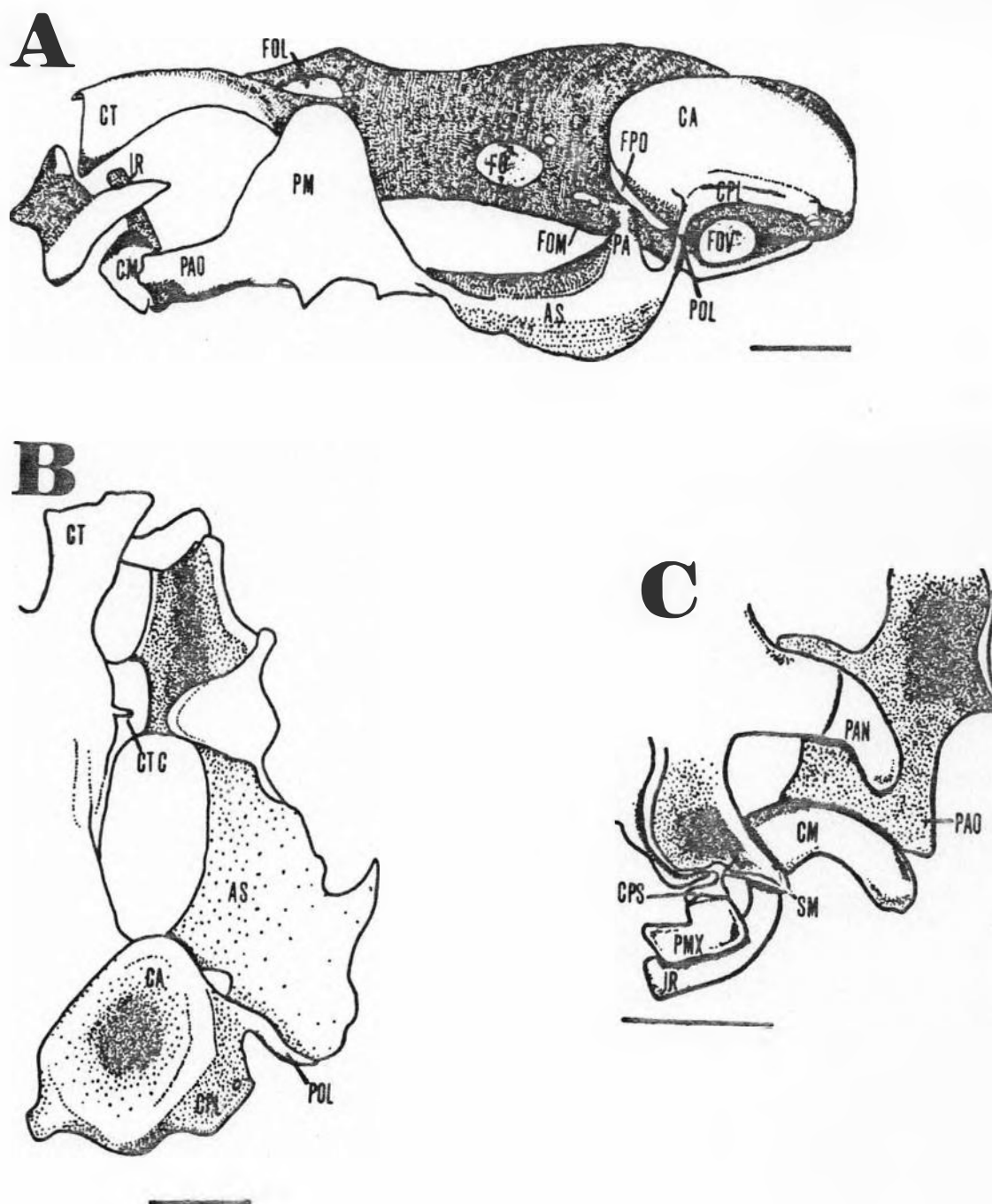
#### Estágio 46.

Este estágio é muito semelhante ao anterior, e a diferença mais acentuada foi o desenvolvimento do processo pseudo-basal. Este cresceu na porção distal articular do quadrado em direção à base da cápsula auditiva, próximo do forâmen proótico.

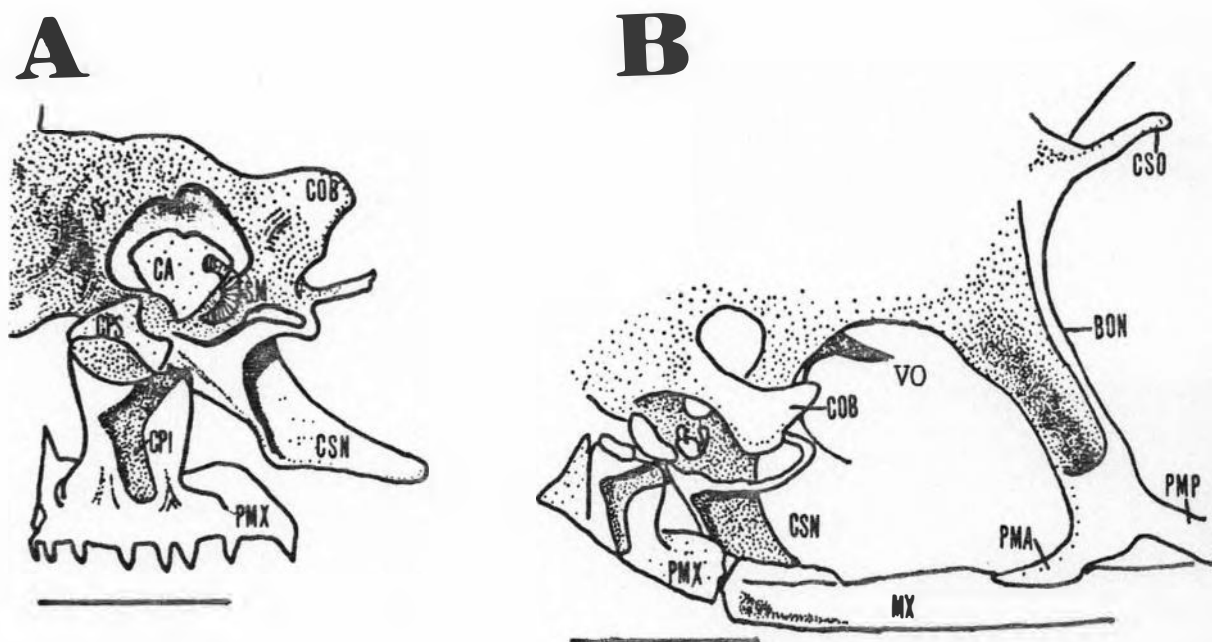




**Figura 3.** Condrocrânio de *Aparasphenodon brunoï* no estágio 37. **A.** vista dorsal. **B.** vista ventral. Abreviaturas: AS, arco subocular; CM, cartilagem de Meckel; CA, cápsula auditiva; CPL, crista parótica larval; CQC, comissura quadrado cranial; CT, corno trabecular; CTC, cartilagem tectum; FC, forâmen da carótida; FJ, forâmen jugular; FOL, forâmen olfativo; FSP, forâmen crânio-palatino; IR, cartilagem infra-rostral; PA, processo ascendente; PAN, processo antorbital; PAQ, processo articular do quadrado; PB, placa basal; PM, processo muscular; POL, processo ótico larval; PP, processo pseudo-pterigóide; SR, cartilagem supra-rostral; TTM, taenia tecti medialis; TS, teto sinótico; TTT, taenia tecti transversalis. (Barras = 1mm)



**Figura 4.** Condrocrânio de *Aparasphenodon brunoi* A. vista lateral do estágio 37, B. vista dorsal do estágio 36, C. vista dorsal da região anterior do estágio 42. Abreviaturas: AS, arco subocular; CM, cartilagem de Meckel; CA, cápsula auditiva; CPL, crista parótica larval; CPS, cartilagem pré-nasal superior; CT, corno trabecular; CTC, cartilagem "tectum"; FO, forâmen ocular; FOM, forâmen oculomotor; FOL, forâmen olfativo; FOV, fenestra oval; FPO, forâmen proótico; IR, cartilagem infra-rostral; PA, processo ascendente; PAN, processo antorbital; PAO, processo articular do quadrado; PM, processo muscular; PMX, pré-maxilar; POL, processo ótico larval; SM, septomaxilar; SR, cartilagem supra-rostral; (Barras = 1mm)



**Figura 5. A.** Vista frontal e **B.** lateral das cápsulas nasais de *Aparasphenodon bruno*. Abreviaturas: BON, barra órbitonasal; CA, cartilagem alar; COB, cartilagem oblíqua; CPI, cartilagem pré-nasal inferior; CPS, cartilagem pré-nasal superior; CSN, crista sub-nasal; CSO, crista supra-orbital; MX, maxilar; PMA, processo maxilar anterior; PMX, pré-maxilar; PMP, processo maxilar posterior; SM, septomaxilar; VO, vômer. (Barras = 1mm)

#### 6.4. SEQUÊNCIA DE OSSIFICAÇÃO CRANIANA (Tabela III)

*Exoccipital.* Os exoccipitais já estão presentes no estágio 36, onde ainda são muito rudimentares, recobrindo parte dos côndilos occipitais, exceto a porção articular, e as bordas do forâmen magno. Seu desenvolvimento parece ser bem lento, e até o final da metamorfose seu crescimento é pouco percebido. Após a metamorfose apresenta algum crescimento em direção às cápsulas auditivas e sobre as bordas do forâmen magno, formando por fim uma peça única e contínua com o proótico que recobre toda a porção posterior da caixa craniana.

*Parasfenóide.* O parasfenóide já apresenta um grau de desenvolvimento bastante adiantado no estágio 36, que poderia indicar que o início de sua ossificação tenha ocorrido mais cedo. Sua forma geral já se assemelha à de um T invertido, que se estende do limite posterior da comissura quadradocranial até a porção posterior do crânio, com suas asas laterais recobrindo mediantemente as cápsulas auditivas. Seu crescimento se dá principalmente no eixo ântero-posterior, e foi percebido não só pelo aumento em comprimento, mas também pelo desenvolvimento na extremidade, que se apresentava bifurcada e aos poucos se tornou arredondada (estágio 39). Outras mudanças morfológicas notáveis foram: o crescimento lateral da porção próxima ao forâmen carótico primário (estágio 40), que tornou a peça mais larga nesta região, e o crescimento das cristas mediais sobre as asas laterais.

*Frontoparietal.* Os frontoparietais foram observados pela primeira vez no estágio 37, já bem desenvolvidos. Ao que tudo indica podem ter surgido anteriormente, o que, no entanto, não se pôde verificar. O crescimento foi facilmente percebido entre os estágios. No início cada peça recobria uma estreita faixa sobre a cartilagem orbital, atingindo

anteriormente a comissura quadradocranial e posteriormente alcançando a borda anterior das cápsulas auditivas. No estágio 40 apresentam-se aproximadamente quatro vezes mais longos e largos, parcialmente recobrimdo as cápsulas auditivas. Com o avançar do desenvolvimento seu crescimento ocorre principalmente póstero-lateralmente. Aos poucos se dá a total cobertura das cápsulas auditivas, a oclusão da fontanela frontoparietal, o que ocorre no sentido ântero-posterior, e a cobertura parcial da órbita. Após a metamorfose tem início o desenvolvimento dos ornamentos, que surgem no centro de cada peça como pequenas incrustações, e aos poucos se tornam mais complexos. Nas bordas laterais externas desenvolvem-se espinhos maiores que formam um padrão serrilhado.

*Pré-maxilar.* Os pré-maxilares devem surgir no estágio 41. No estágio 42 já estão presentes a porção alar, ligada à cartilagem pré-nasal superior, e a dental, ligada à cartilagem pré-nasal inferior. Somente no estágio 45 é que apareceram os primeiros dentes.

*Septomaxilar.* Os septomaxilares aparecem simultaneamente com os pré-maxilares. No estágio 42 assemelham-se a um pequeno V (fig. 4C) e estão ligados à cartilagem do teto nasal por um pequeno filamento cartilaginoso, que se origina próximo ao rudimento de cartilagem pré-nasal superior. Após a metamorfose assumem a forma trirradiada e mais tarde dois dos ramos devem sofrer fusão e gerar a forma que se observa nos exemplares adultos.

*Maxilar.* O desenvolvimento dos maxilares tem início no estágio 42, onde aparecem como finas placas arredondadas entre o processo maxilar anterior e a extremidade anterior do corno trabecular. No estágio 43 verificou-se que a ossificação do maxilar se inicia pela porção facial, que neste estágio encontra-se bastante desenvolvida. No estágio 45 ocorre crescimento da porção dental, que é contínua à porção facial, se alonga

para trás por sobre o processo pterigóide e já apresenta dentes. Após a metamorfose ocorre crescimento da porção anterior, que leva à articulação do maxilar com o pré-maxilar, e da porção posterior que por sua vez se articula com o quadradojugal. Tem início também o desenvolvimento dos ornamentos, que recobrem com pequenas cristas toda a superfície da porção facial e formam um padrão serrilhado na borda, com até três cristas, por todo o comprimento da peça.

*Vômer.* O vômer está presente no estágio 42 como dois pequenos filamentos perpendiculares ao eixo ântero-posterior do crânio, um pouco à frente da extremidade anterior do parasfenóide e próximo às coanas. No estágio 45, além da porção dental já apresentar dentes, projeta para frente uma fina placa óssea ovalada que se estende por sobre o solo nasal até a borda do pré-maxilar. Após a metamorfose, a partir desta placa desenvolvem-se os processos pré e pós-coanal.

*Nasal.* Os nasais estão presentes no estágio 43 como finas placas que recobrem a porção anterior do crânio, estendendo-se das narinas até a placa antorbital. Somente após a metamorfose algumas mudanças, além do simples crescimento em comprimento e largura, foram observadas. Ocorre crescimento em direção à porção facial do maxilar, criando duas superfícies, uma lateral e outra dorsal, e um nítido canto rostral. Mais tarde aparecem os ornamentos que se desenvolvem da mesma forma que nos maxilares, formando, além do padrão superficial, cristas com espinhos maiores no canto rostral e na porção orbital.

*Esquamosal.* O esquamosal surge no estágio 43 como um filamento na margem anterior do processo muscular. Após a metamorfose desenvolvem-se seus ramos zigomático e ótico (estágio 46) e sobre estes se desenvolvem algumas fileiras de espinhos. O ramo ventral apresenta ainda uma aba proximal, não tendo sido possível observar se seu desenvolvimento se deu

a partir do corpo do esquamosal, ou da ossificação e posterior fusão do quadrado.

*Palatino.* O palatino está presente no estágio 45. Consiste de uma placa fina sobre a barra orbitonasal. Após a metamorfose apresenta odontóides em seu eixo médio (estágio 46) e crescimento, recobrindo então toda a barra orbitonasal e se articulando ao maxilar.

*Dentário.* O dentário deve se originar no estágio 44. No estágio 45 já recobre toda a porção dorso-lateral anterior da cartilagem de Meckel. Seu desenvolvimento após a metamorfose ocorre de modo a uni-lo ao mentomeckeliano e ao angular.

*Angular.* O desenvolvimento do angular acompanha o do dentário, sendo bastante semelhante àquele. Após a metamorfose inicia-se em sua porção posterior o desenvolvimento do processo coronóide.

*Pterigóide.* No estágio 46 os pterigóides já são observados na forma trirradiada semelhante à dos adultos. O ramo anterior cresce sobre o processo pterigóide até a articulação com o maxilar; o ramo posterior cresce sobre a porção articular do quadrado, na direção do quadradojugal; e o ramo médio cresce sobre o processo pseudo-basal na direção da cápsula auditiva. Nos exemplares adultos encontra-se uma fina placa óssea na união entre os três processos.

*Quadradojugal.* Os quadradojugais aparecem no estágio 46 com a forma de pequenas clavas e têm a porção posterior ligeiramente mais larga que a anterior. Este formato não se altera muito com o crescimento, que ocorre em direção ao maxilar e por sobre a porção articular do quadrado.

*Columela.* Apenas a porção distal das columelas está ossificada no estágio 46 e nos estágios seguintes esta se expande proximalmente.



*Mentomeckeliano.* A ossificação do mentomeckeliano só ocorre após a metamorfose. É bastante variável, podendo estar completa em exemplares de 18.4mm (CT), onde formará um anel em torno da extremidade da cartilagem de Meckel, ou estar ausente em exemplares maiores de 23,4mm (CT).

*Pré-nasal.* O pré-nasal surge após a metamorfose a partir de dois pequenos centros de ossificação próximos às extremidades dos processos alares dos pré-maxilares, em exemplares de 21mm (CT). Posteriormente as peças crescem e se unem, o que torna difícil a observação das suturas nos exemplares adultos, embora não ocorra a fusão. As peças crescem ainda em direção aos maxilares e desenvolvem ornamentos na forma de espinhos por toda a superfície dorsal (fig. 6A).

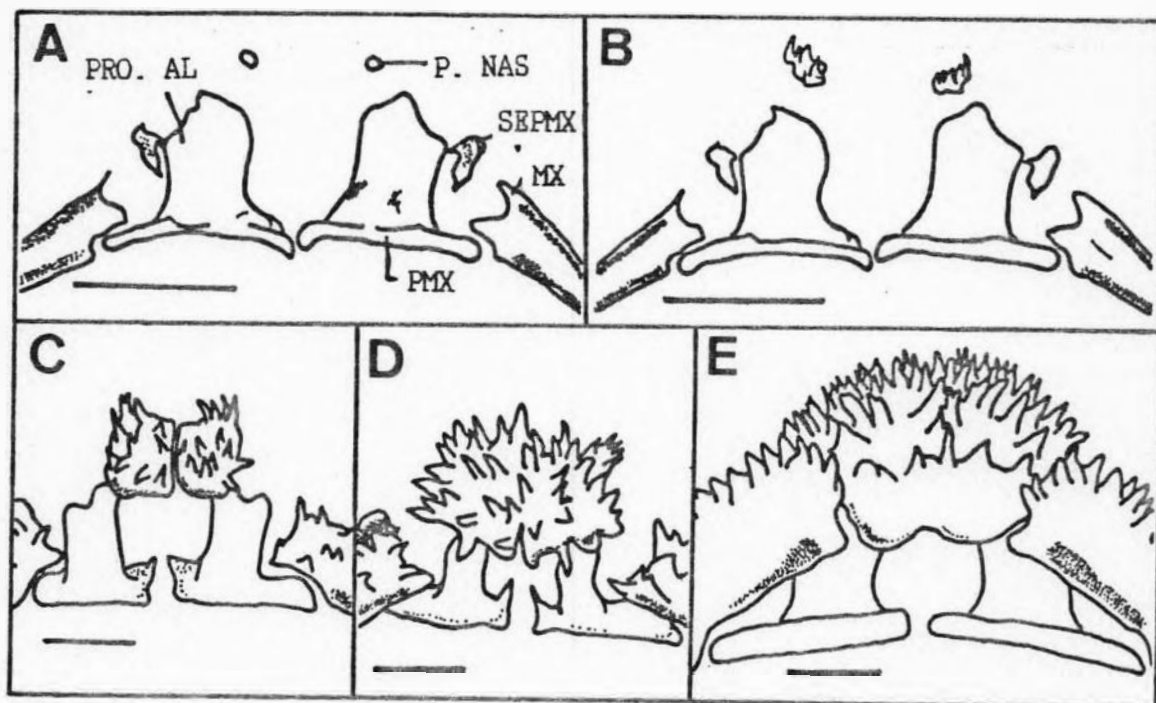
*Proótico.* O proótico surge após a metamorfose. Sua ossificação inicia-se próxima ao forâmen proótico e posteriormente se expande por toda a cápsula auditiva, até fundir-se com o exoccipital.

*Esfenetmóide.* O esfenetmóide foi um dos últimos elementos a se ossificar. Na série de pós-metamorfoseados não foi possível observar o início de sua ossificação, que seguramente não ocorreu em animais menores que 30.0mm (CT). A peça nos exemplares adultos representa a ossificação das cartilagens do limite anterior do proótico até as cartilagens nasais, que também podem estar parcialmente ossificadas, e parte da barra orbitonasal. Em sua superfície dorsal, entre os nasais e os frontoparietais, também se desenvolvem ornamentos de forma semelhante à descrita para a superfície dos outros ossos ornamentados.



Estágios de Gosner	Ossos
36	<b>Exoccipital</b> Parasfenóide
37	Frontoparietal*
42	(Pré-maxilar)* (Septomaxilar)* (Maxilar) (Vômer)
43	(Nasal) (Esquamosal)
45	(Palatino)* (Dentário)* (Angular)*
<hr style="border-top: 1px dashed;"/>	
	(Pterigóide)* (Quadradojugal) (Columela) <b>Mentomeckeliano</b> Pré-nasal <b>Proótico</b> <b>Esfenetmóide</b>

**Tabela III** . Sequência de ossificação dos ossos cranianos de *Aparasphenodon bruno*i. Os ossos estão listados, por estágios, na ordem em que foram observados. Ossos de cartilagem estão em negrito, os marcados com \* podem ter se originado no estágio anterior, os entre parênteses não foi possível observar a ordem de aparecimento. A linha tracejada indica o fim da metamorfose.



**Figura 6.** Desenvolvimento do pré-nasal em exemplares de *Aparasphenodon bruno* A. (21mm CT), B. (23mm CT), C. (28mm CT), D. (30,6mm CT), E. (55mm CT). Abreviaturas: mx., maxilar; pmx., pré-maxilar; p. nas., pré-nasal; pro. al., processo lar; sepmx., septomaxilar. (Barras = 1mm)

## 6.5. O CRÂNIO DOS ADULTOS DE *APARASPHENODON BRUNOI* (fig. 7A e B)

### Região anterior do crânio.

**Pré-nasal.** Os pré-nasais encontram-se praticamente fundidos entre si, parecendo tratar-se de um único osso. Entretanto, a observação de diferentes estágios de desenvolvimento demonstrou a natureza composta da peça. Nas formas adultas o padrão de ornamentação, que recobre a superfície destes ossos, somados à espessura da pele nesta região, dificultam a observação das suturas. Localizam-se à frente dos pré-maxilares e nasais, em contato com as extremidades anteriores dos maxilares, são achatados ventralmente, têm a superfície ventral plana e a dorsal com espinhos grandes. Articulam-se posteriormente com os nasais (exceto onde formam a borda das narinas) e póstero-lateralmente com as bordas labiais dos maxilares. A porção ventral média do conjunto encontra-se livre. Quando destacada e observada, a peça possui uma cavidade central na face posterior onde se aloja a porção anterior do septo nasal.

**Pré-maxilar.** Os pré-maxilares se localizam atrás dos pré-nasais e à frente da borda labial dos maxilares. Possuem um pequeno processo palatino e um longo processo alar, que é côncavo. Nos exemplares jovens observou-se que a extremidade do processo alar está ligada à cartilagem pré-nasal superior e sua base à cartilagem pré-nasal inferior (fig. 5).

**Vômer.** Os vômeres localizam-se no interior da boca lateralmente à linha média do crânio, sobre o solo nasal e a porção anterior do esfenoetmóide (vista ventral). Sua porção anterior localiza-se posteriormente à porção denteada do pré-maxilar e lateralmente à face interna da borda labial dos maxilares. Possuem duas asas laterais bem desenvolvidas, os processos pré

e pós-coanal, que formam respectivamente as margens anterior e pósterolateral das coanas. O processo denteado dos vômeres é bem desenvolvido e ligeiramente curvado. Entre o processo denteado e as asas laterais existe uma fina placa óssea ovalada, unindo as partes numa peça única, representando a maior área do osso em contato com o solo nasal.

**Palatino.** Os palatinos são ossos finos e achatados em forma de cunha e ligeiramente côncavos, localizados posteriormente às coanas, sobre as barras órbitonasais (nos adultos parcialmente ossificadas e formando as expansões ântero-laterais do esfenetmóide) e articulados internamente ao maxilar. Possuem uma fileira mediana de odontóides, que crescem isoladamente ou agrupados em uma pequena crista.

**Nasal.** Os nasais são extremamente largos e estão articulados à frente com os pré-nasais, lateralmente com a porção facial dos maxilares (podendo em alguns exemplares não haver a completa articulação) e posteriormente formam a borda anterior da órbita. Na porção posterior articulam-se mediantemente com a porção dorsal do esfenetmóide e pósterolateralmente com os frontoparietais. Toda a superfície dorsal do osso é ornamentada por cristas de pequenos espinhos. Mediantemente os nasais apresentam uma curvatura acentuada, que forma um canto rostral bem marcado e divide a peça em uma porção lateral e outra dorsal. Na região orbital e sobre o canto rostral os espinhos, dispostos lateralmente, são bastante evidenciados.

**Maxilar.** Os maxilares são peças relativamente robustas. Apresentam a porção facial bastante desenvolvida com a superfície ornamentada, de modo semelhante à superfície dos nasais e frontoparietais. Na porção basal da peça desenvolvem-se abas estreitas, com fileiras duplas ou triplas de espinhos na região orbital e triplas ou com mais fileiras na região justaposta à porção facial.

**Septomaxilar.** Os septomaxilares (fig. 8) assemelham-se a uma pequena concha ovalada com uma perfuração, que abrange aproximadamente um terço do corpo da peça. Na borda distal apresenta um eixo arqueado, com a base lateralmente achatada, que se estende para frente e está ligeiramente curvado para baixo. Observada pelo lado oposto a superfície externa da peça apresenta duas pequenas cristas laterais, projetadas para além dos limites do corpo principal da peça. A posição relativa do septomaxilar, em relação às cartilagens da cápsula nasal, não pôde ser determinada nos exemplares adultos, pois o crescimento dos nasais, dos pré-nasais e da cartilagem alar impossibilitam sua observação.

As cartilagens nasais só puderam ser observadas em animais recém-metamorfoseados e foram descritas na seção que tratou do condrocrânio.

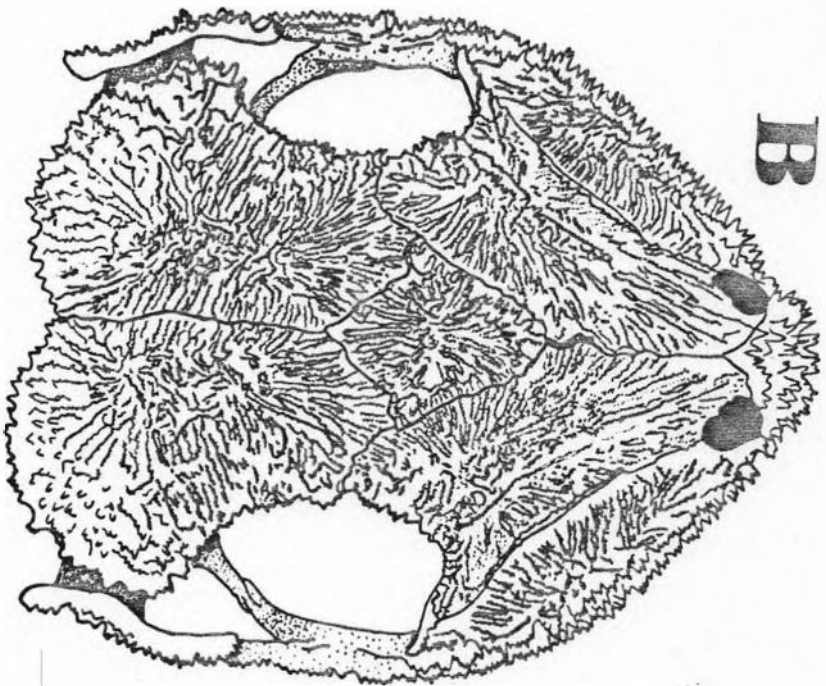
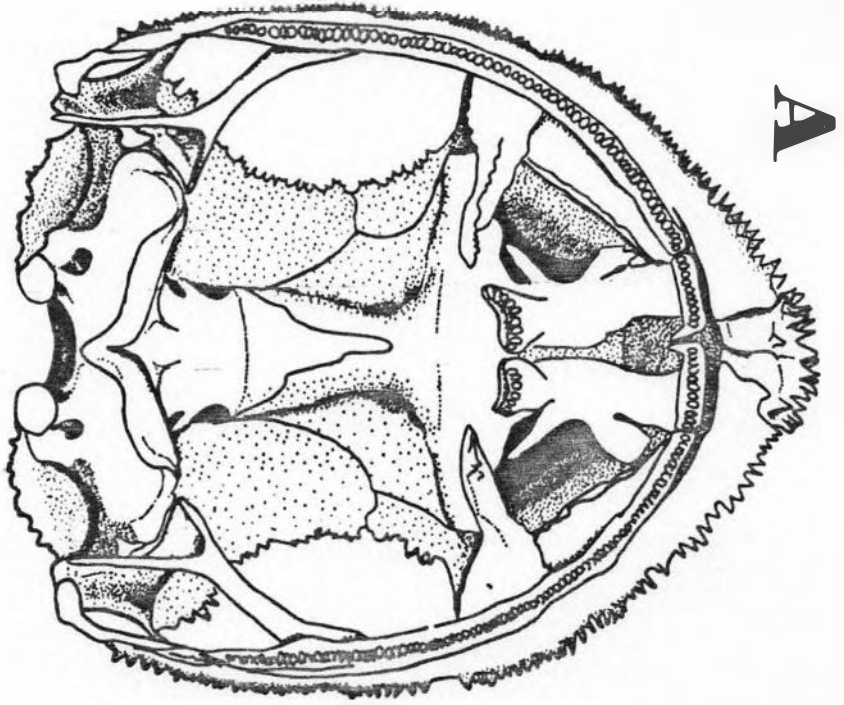
#### O esfenetmóide e a região orbital.

**Esfenetmóide.** O esfenetmóide que representa a ossificação da porção anterior do condrocrânio, incluindo a barra órbitonasal, forma a porção anterior da caixa craniana. Estende-se ventralmente da porção anterior do proótico até o limite posterior do septo nasal. Em vista ventral está parcialmente recoberto pelos vômeres na porção anterior e pelo parasfenóide na porção posterior. Seus ramos laterais (barra órbitonasal) são recobertos pelos palatinos, perfurados pelos forâmens órbitonasal e suas bordas anteriores formam os contornos posteriores das coanas. Imediatamente atrás dos ramos laterais, projetam-se as cristas supra-orbitais, em cartilagem, que crescem sobre as superfícies dorsais dos globos oculares. Dorsalmente o esfenetmóide está parcialmente recoberto pelos nasais e frontoparietais, de modo que apenas uma pequena porção com

forma de losango pode ser observada. Esta pequena porção dorsal também está ornamentada.

*Frontoparietal.* Os frontoparietais são mais largos na porção posterior que na anterior, têm as bordas posteriores em arco e são ligeiramente convexos na região que recobre o olho. Articulam-se anteriormente com os nasais e com a superfície dorsal do esfenetmóide. Lateralmente formam uma cobertura sobre a órbita e mediamente recobrem parte do esfenetmóide e do proótico (proótico + exoccipital). Sua porção lateral posterior é bem próxima do esquamosal (dos ramos ótico e zigomático), podendo se articular com este em alguns exemplares muito grandes. Os frontoparietais estão completamente articulados, não se observando fontanela. A superfície dorsal também apresenta ornamentos que nas margens externas são maiores e formam um padrão serrilhado.

*Parasfenóide.* O parasfenóide recobre ventralmente parte dos ossos formadores da caixa craniana. Apresenta a forma de um "T" invertido, com a barra transversal repousando sobre a porção ossificada das cápsulas auditivas, do conjunto exoccipital + proótico. É um osso extremamente fino, ligeiramente convexo em seu eixo principal, e possui em sua porção transversal uma crista óssea pronunciada.

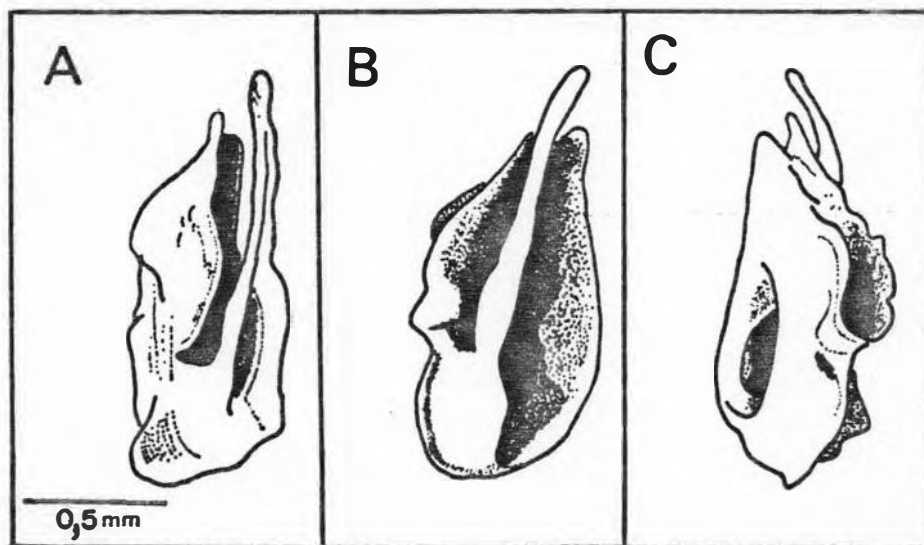


5mm

**Figura 7.** Crânio do adulto de *Aparesphenodon brunoi*. A. Vista ventral, B. Vista dorsal, C. Detalhe da superfície ornamentada do frontoparietal.



0.5mm



**Figura 8.** Septomaxilar de *Aparasphenodon brunoi* em vista **A.** dorsal, **B.** medial e **C.** lateral.



Regiões auditiva e occipital. (fig. 9)

*Esquamosal.* O esquamosal, quando observado lateralmente, também se assemelha a um "T", correspondendo a barra transversal aos ramos zigomático e ótico e a vertical ao ramo ventral. Na superfície dorsal destes ramos crescem duas ou três fileiras de cristas com espinhos grandes e pontiagudos. O ramo zigomático inclina-se para frente, aproximando-se do maxilar e formando a borda externa posterior da órbita. Próximo da sua extremidade, sobre a superfície do olho, desenvolve-se um pequeno corpo cartilaginoso. O ramo ótico recobre a crista parótica, e é ligeiramente menor que o zigomático. A porção ventral da peça possui uma aba lateral que cresce sobre o quadrado e se estende até sua porção articular.

*Pterigóide.* O pterigóide tem a forma de um grande "Y", que na região de união entre os três ramos apresenta uma fina placa triangular. Os três ramos são aproximadamente cilíndricos, sendo maior o que recobre o processo pterigóide e está articulado ao maxilar. Os outros dois (do maior para o menor) crescem: um em direção à articulação esquamosal-quadrado - quadradojugal, e outro em direção ao proótico, formando os limites ósseos da "trompa de Eustáquio", que comunica o ouvido médio à cavidade bucal.

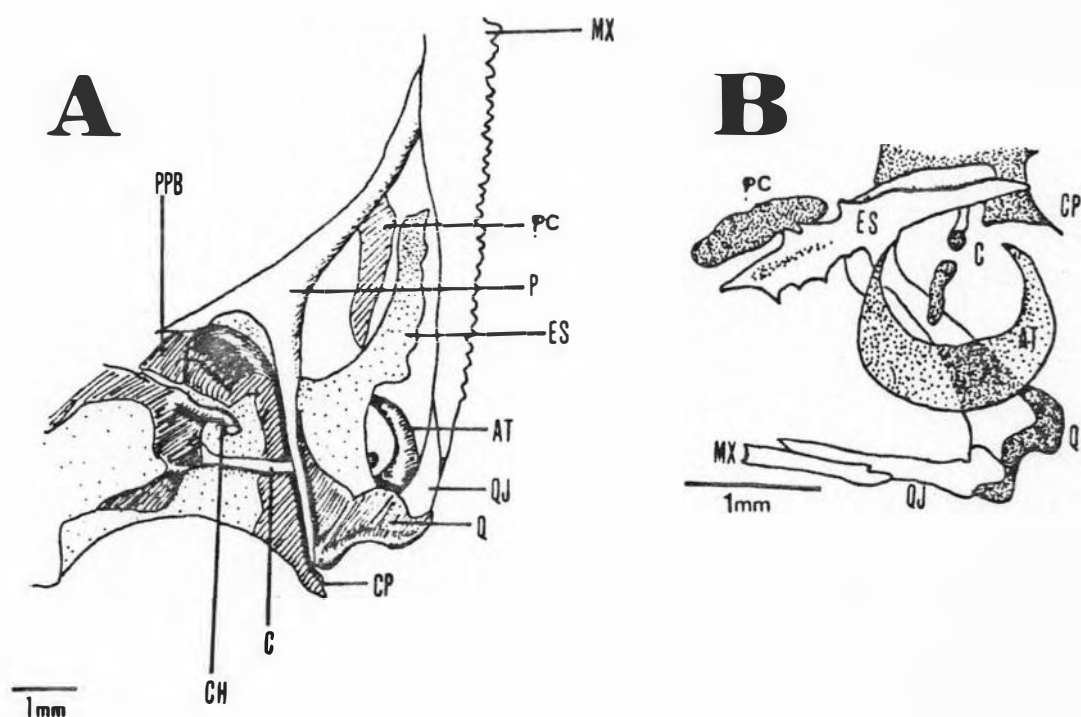
*Quadradojugal.* O quadradojugal tem o formato laminar, com a porção posterior arredondada e a anterior pontiaguda. Articula o maxilar ao ramo ventral do esquamosal e está apoiado sobre a porção articular do quadrado.

**Processo pseudo-basal.** O processo pseudo-basal se localiza na porção ventral da cápsula auditiva, logo atrás do forâmen proótico. É uma expansão cartilaginosa lateral do quadrado que serve de ligação entre o ramo posterior do pterigóide e a cápsula auditiva, com a qual não se funde.

**Quadrado.** O quadrado está ligado à caixa craniana pelo processo ótico e pelo processo pseudo-basal e articulado com a maxila. Apresenta a porção articular com sinais de calcificação (evidenciados pela impregnação com alizarina) e o corpo principal da peça é bastante reduzido nos animais adultos.

**Proótico e Columela.** A porção posterior da caixa craniana, formada pela fusão do proótico com os exoccipitais é denominada proótico. Apresenta os forâmens magno e o jugular, próximos dos côndilos occipitais. A porção lateral superior apresenta uma crista cartilaginosa, a crista parótica, parcialmente recoberta pelo ramo ótico do esquamosal, que se projeta para trás em um curto filamento. Em sua porção anterior o proótico está articulado com o esfenoetmóide e delimita os forâmens oculomotor, ótico e proótico.

Lateralmente às cápsulas auditivas observam-se as columelas, que são cilíndricas e só estão ossificadas em sua porção média.



**Figura 9.** Região posterior do crânio de *Aparasphenodon brunoi* com detalhes das cartilagens que persistem no crânio do adulto. **A.** Vista ventral, **B.** Vista lateral. Abreviaturas: AT, anel timpânico; C, columela; CP, crista parótica; CH, ceratohyal; ES, esquamosal; MX, maxilar; P, pterigóide; PC, processo cartilaginoso do ramo zigomático; PPB, processo pseudo-basal; Q, quadrado; QJ, quadradojugal.

## Maxila

*Mentomeckeliano, Angular e Dentário.* A articulação entre a maxila e o quadrado é feita pela cartilagem de Meckel, que apresenta a sua extremidade calcificada. O angular possui uma região articular e um processo coronóide bem desenvolvidos. O dentário ocupa a posição distal anterior e está fusionado ao mentomeckeliano. Os três ossos juntos envolvem quase completamente a cartilagem de Meckel, exceto na porção anterior interna.

### 6.6. ORNAMENTAÇÃO

A superfície dorsal dos ossos que formam o teto craniano nos exemplares adultos apresenta-se ornamentada (fig. 7B). Os ornamentos estão presentes como cristas, compostas de pequenos e delicados espinhos (fig. 7C), que formam um padrão bastante complexo, ou espinhos maiores e mais fortes. Os primeiros são observados na superfície dos nasais, na porção exposta do esfenetmóide, na porção facial do maxilar e dos frontoparietais. Os espinhos maiores são observados no pré-nasal, no canto rostral formado pelo nasal, no contorno do maxilar, nos ramos ótico e zigomático do esquamosal e nas bordas do nasal e do frontoparietal.

Histologicamente os cortes da superfície dos nasais, do esfenetmóide, dos frontoparietais e dos maxilares, nos diferentes estágios observados, são bastante semelhantes. Nas superfícies ósseas dos diferentes estágios, com ou sem ornamentos, estavam presentes osteoblastos em uma camada unicelular, que não foram observados em qualquer outra posição. Comparando-se os cortes nos diferentes estágios

foi possível acompanhar o desenvolvimento dos ornamentos, que cresceram sempre a partir de tecido ósseo já existente.

Pequenos espinhos se desenvolveram a partir da superfície óssea, tanto nos ossos dérmicos quanto no de cartilagem (esfenetmóide). Os osteoblastos, que são células indicadoras de desenvolvimento osteológico, também foram observados na superfície dos ornamentos, indicando crescimento. Nos estágios mais avançados os espinhos adquirem complexidade e formam as cristas macroscopicamente observáveis, podendo ocorrer a perfuração da pele por algum espinho e a exposição do tecido ósseo.

## 7. *DISCUSSÃO*

### 7.1. CONDROCRÂNIO E ESTRUTURAS CARTILAGINOSAS

Muito pouco se sabe sobre a morfologia do condrocrânio dos hilídeos, seja na fase larval ou após a metamorfose. Os estudos de Parker (1881) com *Acris crepitans* e *Hyla arborea*, contêm incorreções atribuídas ao método de estudo utilizado (de Beer, 1937; Ramaswami, 1940), sendo por esse motivo muito pouco utilizados. Sokol (1981) descreveu apenas a região do suspensório (processo ótico larval, processo ótico e processo ascendente) de *Hyla regilla*, como parte de uma revisão onde compara o condrocrânio de algumas espécies de anuros ao de *Pelodytes punctatus* (Pelodytidae). A única espécie de Hylidae para o qual se dispõem de informações mais completas, é *Hyla lanciformis*, cujo condrocrânio foi descrito por de Sá (1988).

O conhecimento das cartilagens que persistem após a metamorfose é ainda mais rudimentar. Trueb (1968, 1970a) referiu-se a algumas estruturas cartilaginosas para alguns hilídeos, embora suas descrições sejam de pouca utilidade em comparações morfológicas, pois foram baseadas apenas em seções das peças. Jurgens (1971) descreveu a região nasal de *Hyla regilla*.

Ao se estudar o condrocrânio de *Aparasphenodon bruno*i notou-se que algumas estruturas características, e não relacionadas diretamente com a metamorfose, ainda não haviam se diferenciado em estágios bem avançados de desenvolvimento. Estas só surgiram após o estágio 37. A descrição apresentada por de Sá (1988) baseou-se em um girino no estágio 31, que poderia ainda estar sujeito a um grande número de diferenciações, o que de certo modo limita o valor das comparações.

Ao se comparar o condrocrânio de *Hyla lanciformis* ao de *Aparasphenodon brunoi* duas diferenças são logo bastante notáveis. Em *H. lanciformis* a cartilagem supra-rostral é composta por duas peças, facilmente distinguíveis, e não existe conexão entre a cápsula auditiva e o palatoquadrado. Já em *A. brunoi* a supra-rostral, além de não ser composta é uma peça bem mais robusta, e o processo ótico larval pôde ser facilmente detectado unindo o palatoquadrado à cápsula auditiva, semelhante ao descrito para *Hyla regilla* (Sokol, 1981). No caso da supra-rostral pode-se supor que fôra uma peça composta, a julgar pela presença de alguns orifícios que desaparecem em estágios posteriores sugerindo crescimento e fusão de partes anteriormente separadas.

Embora o crânio de um grande número de Hylidae tenha sido descrito (ver como exemplo Duellman, 1970), as cartilagens que persistem após a metamorfose são praticamente desconhecidas. Isto se deve principalmente às técnicas empregadas na preparação dos esqueletos a seco, onde as cartilagens, juntamente com outros tecidos moles, são destruídos.

A crista supra-ocular, que é praticamente ausente em recém-metamorfoseados de *Rana temporaria* (Ranidae) (de Beer, 1937), *Ascaphus truei* (Ascaphidae), *Hyla regilla* (Hylidae) (Jurgens, 1971) *Heleophryne purcelli* (Heleophrynidae) (van der Westhuizen, 1961) e *Ascaphus truei* (Leiopelmatidae) (van Breden, 1951), é bastante desenvolvida em exemplares adultos de *Osteopilus septentrionalis*, como pôde ser observado nas figuras de cortes desta estrutura (Trueb, 1966, fig. 4), e em recém-metamorfoseados e adultos de *A. brunoi*.

O pequeno corpo cartilaginoso, observado próximo ao ramo zigomático do esquamosal em *A. brunoi*, não foi descrito para nenhuma outra espécie,

mas parece estar presente em espécies do gênero *Hyla* e no gênero *Pseudis* (observação pessoal).

O processo pseudo-basal, o quadrado e a crista parótica são mais frequentemente citados nas descrições do crânio adulto (ver como exemplo Duellman, 1970 e Trueb, 1970a), mas não aparecem figurados ou descritos, o que torna impossível comparações.

## 7.2. SEQUÊNCIA DE OSSIFICAÇÃO

Embora algumas generalizações sobre a sequência de ossificação dos ossos cranianos dos anfíbios anuros tenham sido sugeridas (Trueb, 1985; Sá, 1988), o número ainda reduzido de espécies estudadas torna qualquer tentativa, neste sentido, extremamente prematura. Das mais de 3400 espécies de anfíbios anuros conhecidas (Duellman e Trueb, 1986), apenas 26 (incluindo *Aparasphenodon bruno*i) foram estudadas e têm a sequência de ossificação craniana descrita, o que equivale a menos de 1% das espécies conhecidas.

Com exceção da sequência de ossificação descrita por Hanken e Hall (1984) para *Bombina orientalis* (Discoglossidae), as outras 17 sequências figuradas por Trueb (1985) apresentam problemas quanto à avaliação precisa da ordem de aparecimento dos ossos. Isso também é verdade para as sequências descritas por Wiens (1989) para *Spea bombifrons* (Pelobatidae) e Davies (1989) para cinco Leptodactylidae australianos, o que vem sendo julgado por esses autores como imprecisão na definição das tabelas, que deveriam conter um maior número de estágios.

Entretanto, o principal problema na avaliação da ordem de aparecimento dos ossos é amostral. Em grande parte destes trabalhos (Trueb, 1966; Duellman e Trueb, 1966; Trueb, 1970a; Trueb, 1985 e



referências; Davies, 1989; Wiens, 1989) não se estudou uma série de animais que abrangesse todas as fases envolvidas na ossificação craniana. Com isto, o que se está considerando desvio de um "padrão geral" de desenvolvimento (Trueb, 1985), pode não passar de um erro amostral. Deste modo, como foi sugerido por de Sá (1988), estas sequências precisariam ser cuidadosamente reestudadas. Por conseguinte, a sequência encontrada para *Aparasphenodon brunoi* (ver Tabela III) só será comparada à descrita para *Hyla lanciformis* (de Sá, 1988) que, por se tratar também de um hilídeo e se basear em uma boa amostra, representa o melhor material para comparações.

#### Estágios anteriores ao início da metamorfose. (até o estágio 41)

Com exceção do proótico, que em *H. lanciformis* apareceu antes do início da metamorfose e em *A. brunoi* somente após esse processo, os ossos que surgiram nestes estágios foram os mesmos para as duas espécies - o exoccipital, o parasfenóide e o frontoparietal.

#### Estágios durante a metamorfose. (do estágio 42 ao 45)

O surgimento do pré-maxilar, septomaxilar, maxilar, esquamosal, dentário e angular ocorreu nestes estágios nas duas espécies. São diferenças as ossificações do vômer e do palatino, presentes apenas em *A. brunoi*, e as dos esfenetmóide e mentomeckeliano, presentes apenas em *H. lanciformis*.

#### Estágios pós-metamorfose. (do estágio 46 à fase adulta)

Nestes estágios em *A. brunoi* desenvolvem-se o pré-nasal e os ornamentos ósseos, que não se desenvolvem em *H. lanciformis*. A columela e

o quadradojugal ossificam-se nestes estágios nas duas espécies. Em *A. brunoi* se desenvolve ainda o esfenetmóide, que em *H. lanciformis* já havia se desenvolvido antes do fim da metamorfose.

### 7.3. ESTÁGIOS E DESENVOLVIMENTO

Os estudos do desenvolvimento dos ossos cranianos nos anfíbios anuros abordaram a ontogenia sob dois contextos básicos. Em parte dos trabalhos a diferenciação ontogenética é tratada como um teste das relações de homologia. Caracteres em organismos diferentes, que apresentem um padrão similar de desenvolvimento e diferenciação, e que mantenham as mesmas relações topográficas durante o desenvolvimento, são considerados homólogos. Neste grupo de trabalhos encontram-se, com exceção de Roček (1989), trabalhos mais antigos, que vêem na ontogenia um mecanismo seguro de se determinar o que seja, ou não, homólogo. Entretanto, o conceito de homologia sofreu profundas revisões (ver Rieppel, 1988 para revisão histórica) e atualmente, homologia é utilizada como sinônimo de sinapomorfia, ou seja, apenas os caracteres derivados compartilhados que corroboram hipóteses de monofilia em análises cladistas (Patterson, 1982). Esta concepção de homologia não descarta as hipóteses de homologia a partir da ontogenia, que somente após passarem por testes de congruência em esquemas filogenéticos podem ser ou não corroboradas (Rieppel, 1988).

Uma outra abordagem dada à sequência de eventos ontogenéticos lida com hipóteses sobre os mecanismos de diferenciação (ver Gould, 1977). Neste grupo são importantes a definição e a utilização de estágios, e uma técnica que permita observar o início das diferenciações dos caracteres estudados (Alberch, 1985). Com estes estudos procura-se compreender os

mecanismos envolvidos na diferenciação filogenética, adotando-se hipóteses que descrevam o processo evolutivo. As mudanças filogenéticas nos ritmos dos eventos de desenvolvimento – heterocronia – são dotadas de grande importância nestes estudos (Trueb e Alberch, 1985).

Para heterocronia Gould (1977) apresentou duas definições, a mais antiga delas, que foi atribuída a E. Haeckel, trata das diferenças no ritmo de desenvolvimento de uma estrutura homóloga em organismos diferentes (uma estrutura *a* se desenvolve antes de uma *b* no organismo A e inversamente no organismo B). Deve-se ressaltar que esta definição é livre de qualquer pressuposto evolutivo e que a detecção destes casos foi utilizada como evidência contra a hipótese de recapitulação deste autor (Gould, 1977). A outra definição, que é atribuída a G.R. de Beer (1940, *apud* Gould, 1977), trata das mudanças no ritmo de desenvolvimento de estruturas quando a ontogenia de descendentes e seus ancestrais é comparada. Esta definição necessita que se conheça previamente o desenvolvimento da forma ancestral, bem como de um método que permita a comparação dos ritmos de diferenciação (Gould, 1977; Alberch *et al.*, 1979; Kluge, 1988).

Embora o segundo conceito seja atualmente o mais empregado, o reconhecimento dos efeitos atribuídos à heterocronia, pelo menos nos estudos com anfíbios anuros, são mais comumente percebidos através da comparação entre espécies atuais (ver como exemplo os trabalhos de Stephenson, 1960; Stephenson, 1965; Trueb, 1985; Trueb e Alberch, 1985; Davies, 1989), adotando-se de certa maneira a definição haeckeliana.

De fato, o que se tem sugerido como morfologia pedomórfica, no conjunto de estudos da escola da Heterocronia (Alberch, 1985 define heterocronia como uma nova área de conhecimento na biologia), se encaixa no modelo geral para detecção deste fenômeno (Trueb e Alberch, 1985).

Esses autores prevêm que as estruturas que aparecem próximo ao fim do desenvolvimento estariam mais sujeitas à deleção e caso não estivessem presentes indicariam perturbação heterocrônica do desenvolvimento.

No entanto, a ausência de um caráter morfológico no adulto, também ausente no jovem (do ancestral ou não) não deveria ser indicativo de pedomorfose, pois a definição deste fenômeno sugere retenção de morfologia ancestral juvenil pelos descendentes adultos (Gould, 1977). E a ausência de um caráter não significa retenção de caráter algum.

De fato, perceber pedomorfose sem um mecanismo preciso de reconstrução filogenética, que permita principalmente a possibilidade de testes, parece impossível (Nelson, 1978). Alguns autores (Fink, 1982; Rieppel, 1985, por exemplo), sugeriram que os caracteres incongruentes nas reconstruções filogenéticas cladistas sejam os casos mais prováveis de pedomorfose. Entretanto, a união de abordagens de padrões com as que analisam processos devem ser vistas com cautela (Rieppel, 1988).

Merece ainda destaque no conjunto das interpretações de processos aqui abordados, o conceito e a utilização de estágios como unidades de comparação entre organismos. A noção de estágios é relacionada ao início da embriologia comparada, sendo atribuído a Von Baer com posterior elaboração por Sewertzoff (*apud* Lovtrup, 1988). No entanto a escolha de um estágio para se comparar diferentes organismos se desenvolvendo, é tarefa bastante complicada (de Beer, 1937), principalmente quando são observadas diferenças na velocidade de desenvolvimento, ou seja, heterocronia no senso haeckeliano.

Para os anfíbios anuros, algumas tabelas de classificação dos diferentes estágios de desenvolvimento dos girinos foram propostas (ver Trueb, 1985). Nestas a separação entre estágios baseia-se na observação

de algumas estruturas que se desenvolvem externamente (exemplo, o opérculo, as patas traseiras e a boca).

Ao se estudar o desenvolvimento craniano nos anfíbios anuros tem-se procedido de forma que a observação de cada início de ossificação seja relacionada a um estágio previamente estabelecido (Trueb, 1985 e referências). As alterações observadas na sequência de diferenciações entre as espécies, percebidas pela comparação com uso dos estágios, têm sido atribuídas a alterações no ritmo de desenvolvimento (Trueb, 1985; Trueb e Alberch, 1985). No entanto, podem ocorrer alterações na taxa de desenvolvimento de um determinado estágio em uma espécie (Duellman e Klaas, 1964) e não em outras, e os referenciais utilizados para detecção dos estágios também podem sofrer estas variações (Gaudin, 1978), o que torna difícil se decidir onde ocorreu alteração.

Outra limitação destes estudos, particularmente os de sequência de ossificação, diz respeito à própria técnica utilizada na observação do início das diferenciações. Para que os ossos sejam observados eles são corados com alizarina, um corante que se liga ao cálcio presente nos ossos. Esta técnica permite apenas que se observem os ossos muito depois de diferenciados (Hanken e Hall, 1988).

#### 7.4. ORNAMENTAÇÃO DOS OSSOS DO TETO CRANIANO

Várias espécies de anfíbios anuros, em diferentes famílias, possuem ossos cranianos com ornamentos (Trueb, 1970a; Trueb, 1973; Trueb e Tyler, 1974; Rocek, 1986), que podem estar presentes na forma de espinhos, cristas, projeções ósseas e rugosidades. Boulenger (1882) ao se referir à existência desses ornamentos, ressaltou a relação destes com a pele que

os recobre ao tratar dos Cystignatidae (= Leptodactylidae)<sup>2</sup> e dos Bufonidae<sup>3</sup>, supondo, de certo modo, tratar-se de um processo de substituição de tecido durante o desenvolvimento. Carvalho (1939) e Lutz e Lutz (1939), ao descreverem alguns aspectos da biologia de *Aparasphenodon brunoi*, também fizeram referência à morfologia particular do crânio desta espécie, a qual se referem como carapaça óssea de origem dérmica encrustada nos ossos do crânio.

Trueb (1966) definiu histologicamente co-ossificação (termo aparentemente cunhado por Duellman [1956] em alusão à situação apresentada por Boulenger) como um processo de substituição da derme por tecido ósseo e apresentou algumas características deste tecido. Suas observações basearam-se em cortes da pele sobre o esfenetmóide, como exemplo de pele co-ossificada (ver sua figura 6 A) e da pálpebra superior sobre a crista supra-orbital, como exemplo de pele não co-ossificada (ver suas figuras 4 e 6 B).

Embora a noção de co-ossificação, como um processo de substituição de camadas dérmicas por osso e subsequente fusão entre a pele e o osso, seja largamente aceita e empregada, e até lhe atribuem valor adaptativo (Trueb, 1973; Seibert *et al.*, 1974), sua descrição não se baseou na observação direta do processo. Ao comparar os cortes da pele sobre duas regiões distintas do crânio de *Osteopilus setentrionalis*, Trueb (1966) apenas sugeriu o que poderia ter ocorrido, já que a ontogenia do processo não foi diretamente observada. Assim, o que atualmente se entende por co-ossificação tem caráter meramente hipotético.

---

<sup>2</sup> "A few species have the skin of the head replaced by a rugose cranial ossification..." (p.183)

<sup>3</sup> "... in a few other species of the latter genus [*Bufo*] the derm is completely involved in the cranial ossification..." (p. 274)

Ao se estudar o desenvolvimento dos ossos cranianos de *Aparasphenodon brunoi*, procurou-se acompanhar e compreender, através da histologia, o desenvolvimento dos ornamentos. Os animais utilizados para estas observações estavam em diferentes fases do desenvolvimento, o que possibilitou comparações entre regiões similares do crânio em diferentes estágios. Os ornamentos desenvolveram-se a partir de tecido ósseo já existente, formando peças únicas e contínuas. O desenvolvimento dos ornamentos se deu sem que ocorresse ossificação da derme, não havendo, portanto, qualquer indício de co-ossificação.

No início, o desenvolvimento dos ornamentos foi bastante semelhante ao descrito para o crescimento de odontóides em *Hemiphractus proboscideus* (Shaw, 1989; Shaw e Ellis, 1989). Pequenas protuberâncias surgem contínuas a superfície óssea e crescem pela deposição de novas camadas. Em *A. brunoi*, o padrão apresentado pelos ornamentos tornou-se mais complexo com o decorrer do desenvolvimento, formando nos animais adultos cristas compostas por minúsculos espinhos apontados para várias direções. Este padrão multiramificado aumenta extraordinariamente a superfície dos ossos, o que resulta no alto grau de adesão entre estes e a pele.

A presença de ornamentos no crânio dos anfíbios anuros tem sido considerada uma forma de adaptação das espécies à ambientes semi-áridos (Trueb, 1966; Coldiron, 1974; Seibert *et al.*, 1974; Gayer, 1984), mas, no entanto, a área de distribuição de *Aparasphenodon brunoi* não inclui regiões semi-áridas (Sazima e Cardoso, 1980). Ao contrário, *A. brunoi* se distribui em região de mata atlântica, onde as chuvas ultrapassam os mil milímetros anuais e não ocorrem períodos secos (Nimer, 1979).

## 7.5. COMENTÁRIOS SOBRE ALGUNS ELEMENTOS ÓSSEOS

### O esfenetmóide dérmico.

Em 1966, ao caracterizar o fenômeno da co-ossificação, Trueb também descreveu um novo elemento ósseo, o esfenetmóide dérmico, presente em alguns Hylidae do grupo dos "Casque-headed" com a pele do crânio co-ossificada (Trueb, 1970a). Esta neo-formação, que estaria fundida à superfície dorsal do esfenetmóide, apresenta forma romboidal, está ornamentada e sua gênese vinculada ao processo de co-ossificação.

A maioria dos anuros apresenta apenas o esfenetmóide, que é um elemento que se ossifica em pré-molde cartilaginoso (de Beer, 1937; Duellman e Trueb, 1986). Nos "Casque-headed", além do esfenetmóide, haveria este novo elemento que, segundo Trueb (1966 e 1970a), surge da transformação da derme em osso, no processo de co-ossificação, e logo se funde ao esfenetmóide abaixo.

Em *Aparasphenodon brunoí*, o processo de formação dos ornamentos não envolveu aparecimento extra de tecido ósseo - não ocorreu co-ossificação. O esfenetmóide tornou-se ornamentado da mesma forma que os demais ossos, onde os ornamentos surgem como pequenos espinhos contínuos à superfície óssea e com o tempo adquirem complexidade.

Estas observações tornam desnecessária a utilização do termo esfenetmóide dérmico para *A. brunoí*, já que a superfície dorsal do esfenetmóide não representa uma neo-formação. O mesmo deve ser também válido para as outras espécies do grupo (ver Trueb, 1970a), se o processo de formação dos ornamentos fôr semelhante ao aqui descrito.



### O pré-nasal.

O pré-nasal foi descrito para anfíbios anuros por Trueb (1970a) ao estudar a evolução das pererecas do grupo dos "Casque-headed". É conhecido apenas dos gêneros *Aparasphenodon* e *Tripriion*, sendo único, mediano e localizado na extremidade anterior do crânio. No mesmo trabalho foi descrito também o desenvolvimento do pré-nasal a partir de um exemplar jovem (15.5mm CT), para o qual um único centro de ossificação foi observado.

Em *Aparasphenodon brunoi* o desenvolvimento do pré-nasal teve início em animais um pouco maiores (21,0mm CT) e foram observados dois centros de ossificação ao invés de um, como em *Tripriion petasatus*. Além disto, o tamanho do pré-nasal em *A. brunoi*, quando observado pela primeira vez durante o desenvolvimento, era aproximadamente três vezes menor que o do septomaxilar, enquanto que, em *Tripriion petasatus*, este era aproximadamente seis vezes maior. Aparentemente, em *T. petasatus*, o estágio em que se deu a primeira observação deste elemento ósseo não equivaleu àquele em que a peça surge, havendo a possibilidade de que nesta espécie o pré-nasal surja mais cedo, e também a partir de dois centros de ossificação.

Associado ao nome pré-nasal existe ainda um outro problema. Aparentemente, ao nomear esta neo-formação Trueb (1970a) apenas quis referir-se ao posicionamento do osso (antes dos nasais), sem maiores preocupações quanto à sua possível homologia. Entretanto, o mesmo nome é empregado com referência a um elemento impar, que ocupa posição similar no crânio do Salamandridae do gênero *Triturus* (ver de Beer, 1937). Nesta salamandra a peça foi descrita a partir de um único centro de ossificação. Assim, considerando-se que em *Tripriion petasatus* existe a possibilidade de se tratarem de dois ossos, deve-se, a princípio,

descartar a hipótese de homologia que esta homonímia possa sugerir e utilizar-se um novo nome para este caráter no caso dos anuros ou simplesmente ressaltar que nestes não se trata de uma peça ímpar.

#### 7.6. O CRÂNIO DE *APARASPHENODON BRUNOI* E A RELAÇÃO ENTRE OS GÊNEROS DO GRUPO DOS "CASQUE-HEADED"

Atualmente 25 gêneros, com mais de 360 espécies, são reconhecidos para a sub-família Hylinae (Duellman e Trueb, 1986). Destes, *Aparasphenodon*, *Argenteohyla*, *Calyptahyla*, *Corythomantis*, *Osteocephalus*, *Osteopilus*, *Pternohyla*, *Trachycephalus* e *Triprion* muito provavelmente representam um grupo natural de espécies, a julgar pela morfologia particular de seus ossos cranianos (ver Trueb, 1970a; 1970b; Trueb e Tyler, 1974). Os ossos da superfície dorsal do crânio, nas espécies deste grupo, são bastante desenvolvidos e apresentam um complexo padrão de ornamentação, composto por cristas e espinhos (Trueb, 1966; 1970a; 1970b), que aparentemente só se observa para estas espécies.

As relações evolutivas entre os gêneros neste grupo foi proposta por Trueb (1970a), que estudou a morfologia dos ossos cranianos para algumas espécies, comparando-as com as de outros hilídeos. Entretanto, suas interpretações da relação entre os caracteres e a utilização prévia de hipóteses sobre a biogeografia do grupo na polarização dos caracteres, limitam a abrangência de suas conclusões.

O crânio de *Aparasphenodon brunoi* tem como principais características o nasal em dois planos, uma extensa porção facial do maxilar, os frontoparietais internamente articulados e recobrindo toda a porção posterior do crânio, as bordas do maxilar, do nasal, do frontoparietal e a superfície dos ramos ótico e zigomático do esquamosal

serrilhadas, que o tornam bastante semelhante ao crânio das outras espécies deste grupo (ver Trueb, 1970a para descrição dos crânios). Somados a estas características, o formato romboidal da porção dorsal do esfenetmóide e a presença de ornamentos são fortes indicações de monofilia neste grupo, ao contrário do que Trueb (1970a), com base em sua hipótese biogeográfica, apresentou.

*Aparasphenodon brunoi*, juntamente com *A. venezolanus* (ver Paolillo e Cerda, 1981), estaria mais associada com as espécies do gênero *Triprion* por serem as únicas espécies neste grupo que apresentam o pré-nasal. No entanto, para serem corroboradas, essas hipóteses necessitam obviamente de um refinado estudo morfológico para todos os representantes do grupo.

## 8. CONCLUSÕES

- As descrições do condrocrânio dos anfíbios anuros devem ser realizadas com base na observação de mais de um estágio, para assim garantir a observação das variações que algumas estruturas sofrem durante o desenvolvimento.

- Para que seja assegurada a observação mais refinada dos eventos de diferenciação durante o desenvolvimento, as amostras devem abranger não somente indivíduos nos diferentes estágios, mas também as variações de tamanho que possam ocorrer em cada estágio.

- Em virtude do reduzido número de espécies estudadas e de informações sobre a interdependência do desenvolvimento de diferentes estruturas, construir uma hipótese geral que permita entender algumas variações na sequência de desenvolvimento dos ossos cranianos é ainda muito prematura.

- Em função de diferenças no ritmo de desenvolvimento de algumas estruturas, a comparação entre estágios imaturos de anfíbios anuros deve se basear na diferenciação de cada estrutura durante todo o desenvolvimento, e não em informações do tipo presença e ausência em um dado estágio.

- O processo de co-ossificação não ocorre em *Aparasphenodon brunoi*, visto que nesta espécie os ornamentos se desenvolveram a partir do tecido ósseo já existente, e não houve transformação da derme em osso durante o desenvolvimento.

- A adesão da pele ao crânio em *Aparasphenodon brunoi* é decorrente do aumento de superfície relativa criado pelos ornamentos e não por um processo de transformação da derme em osso.

- Em *A. brunoi* não havendo co-ossificação o termo esfenetmóide dérmico, utilizado para designar a porção dorsal do esfenetímóide formada a partir deste processo, não deve ser empregado

- Os ornamentos sobre o crânio de *A. brunoi* não representam uma forma de adaptação aos ambientes semi-áridos, visto que esta espécie só ocorre ao longo da Mata Atlântica, em ambientes bastante chuvosos.

- O desenvolvimento do pré-nasal em *A. brunoi* ocorre a partir de dois centros de ossificação e não a partir de um, como anteriormente descrito, não devendo por este motivo, ser considerado homólogo ao elemento de mesmo nome presente no gênero *Triturus* (Salamandridae), que é ímpar.

- O desenvolvimento do pré-nasal em *Triprion petassatus* deve ser reestudado, visto que o primeiro estágio em que foi observado não representou o estágio em que a ossificação se iniciou.

- A morfologia craniana particular dos "Casque-headed" não deve ser considerada homoplasia e a sistemática do grupo deve ser reexaminada.

## **9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Alberch, P. 1985. Problems with the interpretation of the developmental sequences. *Syst. Zool.* **34** (1): 46-5.
- Alberch, P., Gould, S. J., Oster, G. F. e Wake, D. B. 1979. Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology* **5** (3): 296-317.
- Altig, R. 1969. Notes on the ontogeny of the osseous cranium of *Ascaphus truei*. *Herpetologica* **25** (1): 59-62.
- Altig, R. e Johnston, G. F. 1986. Major characteristics of free-living anuran tadpoles. *Smithsonian Herpetological Information Service* (67): 1-75.
- Baldauf, R. J. e Tanzer, E. C. 1965. Contributions to the cranial morphology of the leptodactylid frog, *Syrrhophus marnocki* Cope. *Texas Journal of Science* **17** (1): 71-100.
- Boulenger, G. A. 1882. *Catalogue of the Batrachia Salientia s. Ecandata in the Collection of the British Museum*, 2nd ed., British Museum, London, xvi + 503 pp.
- Buffrénil, V. 1982. Morphogenesis of bone ornamentation in extant and extinct crocodilians. *Zoomorph.* **99**: 155-166.
- Carmo, M. A. M. e Lacerda, L. D. 1984. Limnologia de um brejo de dunas em Maricá - RJ. In: Lacerda, L.D., Araujo, D.S.D., Cerqueira, R. &

- Turcq, B. (orgs.). *Restingas: Origem, Estrutura, Processos*, CEUFF, Niterói, RJ. 1984: 455-460.
- Carvalho, A. L. 1939. Nota previa sobre os habitos de uma interessante "perereca" bromelicola do litoral SE. brasileiro. *O Campo* 1939: 25-26.
- Carvalho, A. L. 1941. Notas sobre os gêneros *Corythomantis* Boulenger e *Aparasphenodon* Miranda-Ribeiro. *Papéis Avulsos de Zoologia*, São Paulo. 1 (14): 101-110.
- Coldiron, R. W. 1974. Possible function of ornament in labyrinthodont amphibians. *Occ. Pap. Mus. Nat. Hist., University Kansas*, 33: 1-19.
- Davies, M. 1989. Ontogeny of bone and the role of heterochrony in the Myobatrachine genera *Uperoleia*, *Crinia*, and *Pseudophryne* (Anura: Leptodactylidae: Myobatrachinae). *J. Morph.* 200: 269-300.
- De Beer, G. R. 1937. *The Development of the Vertebrate Skull*, Oxford University Press, xxiv + 552 pp., 142 pls.
- De Jongh, H. J. 1968. Functional morphology of the jaw apparatus of larval and metamorphosing *Rana temporaria* L. *Netherlands J. Zool.* 18 (1): 1-103, 24 pls.
- De Sá, R. O. 1988. Chondrocranium and ossification sequence of *Hyla lanciformis*. *J. Morph.* 195: 345-355.

- Duellman, W. E. 1956. Proposed use of the plenary power to suppress the specific name "*venulosa*" Laurenti, 1768, as published in the combination "*Rana venulosa*" and "*tibiatrix*" Laurenti, 1768, as published in the combination "*Hyla tibiatrix*", together with the generic name "*Acrodites*" Fitzinger, 1843 (Class Amphibia, Order Salientia). Bull. Zool. Nomencl. 12 (5): 143-146.
- Duellman, W. E. 1970. **The hylid frogs of Middle America**. Monog. Mus. Nat. Hist., The University of Kansas. 1: 1-753.
- Duellman, W. E. e Klaas, L. T. 1964. The biology of the hylid frog *Tripurion petasatus*. Copeia 1964 (2): 308-321.
- Duellman, W. E. e Trueb, L. 1966. Neotropical frogs of the genus *Smilisca*. Univ. Kansas Publ., Mus. Nat. Hist., 17 (7): 281-375, 12 pls.
- Duellman, W. E. e Trueb, L. 1986. **Biology of Amphibians**. McGraw-Hill, New York, xvii + 670pp.
- Dugès, A. 1834. Recherches sur l'ostéologie et la myologie des batraciens à leurs différents ages. Mém. Acad. Sci. Inst. Fr., Math. Phys. 6: 1-206.
- Baton Jr., T. H. 1939. Development of frontoparietal bones in frogs. Copeia 1939 (2): 95-97.



- Erdmann, K. 1933. Zur entwicklung des knöchernen skelets von *Triton* und *Rana* unterbesonderer beruksichtigung der zeitfulge der ossifikationen. Zeit. Anat. Entwgesch. 101: 566-651.
- Fink, W. L. 1982. The conceptual relationship between ontogeny and phylogeny. Paleobiology 8: 254-264.
- Gaudin, A. J. 1973. The development of the skull in the pacific treefrog *Hyla regilla*. Herpetologica. 29 (3): 205-218.
- Gaudin, A. J. 1978. The sequence of cranial ossification in the California toad, *Bufo boreas* (Amphibia, Anura, Bufonidae). J. Herp. 12 (2): 309-318.
- Gaupp, E. 1904. A. Ecker's und R. Wiedersheim's anatomie des frosches 3, ed. 2, xii + 961 pp.
- Gaupp, E. 1906. Die entwicklung des kopfskelettes. In: Hertwig, O. Handbuch der vergleichenden und experimentellen entwickelungslehre der wirbeltiere 3 (2): 573-875.
- Gayer, S. M. P. 1984. Osteologia do sincrânio de *Ceratophrys aurita* (Raddi, 1983) (Anura, Leptodactylidae). Revta. bras. Zool. 2 (3): 113-137.
- Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. Herpetologica 16: 183-190.

- Gould, S. J. 1977. **Ontogeny and Phylogeny**. Belknap Press, Harvard, ix + 501 pp.
- Griffiths, I. 1954. On the nature of fronto-parietal in Amphibia, Salientia. Proc. Zool. Soc. Lond. **123** (4): 781-792.
- Hanken, J. e Hall, B. K. 1984. Variation and timing of the cranial ossification sequence of the oriental fire bellied toad, *Bombina orientalis* (Amphibia: Discoglossidae). J. Morph. **182**: 245-255.
- Hanken, J. e Hall, B. K. 1988. Skull development during anuran metamorphosis: I. Early development of the first three bones to form - the exoccipital, the parasphenoid, and the frontoparietal. J. Morph. **195**: 247-256.
- Jacobson, C. M. 1968. The development of the chondrocranium in two species of the Australian anuran genus *Pseudophryne* Fitzinger. Aust. J. Zool. **16**: 1-15.
- Jurgens, J. D. 1971. The morphology of the nasal region of Amphibia and its bearing on the phylogeny of the group. Annale Universiteit Van Stellenbosch **46** Ser. A. (2): 71-146.
- Kemp, N. E. e Hoyt, J. A. 1969. Sequence of ossification in the skeleton of growing and metamorphosing tadpoles of Rana pipiens. J. Morph. **129**: 415-444.

- Kluge, A. G. 1988. The characterization of ontogeny. In: Humphries, C. J. (ed.), **Ontogeny and Systematics**, Columbia University Press, New York, p. 57-81.
- Lebedkina, N. L. 1960. The development of bones in the skull roof of Amphibia. In: Orvig, T. (ed.), **Current Problems of Lower Vertebrate Phylogeny**. Stockholm: Almqvist and Wiksell, p. 317-329.
- Lovtrup, S. 1988. Epigenetics. In: Humphries, C. J. (ed), **Ontogeny and Systematics**, Columbia University Press, New York, p. 189-227.
- Lutz, A. e Lutz, B. 1939. II. Mosquitos biting batrachians and phragmosis in casque-headed frogs. *Ann. Acad. Bras. Ciênc.* **XI** (3): 254-258.
- Lynn, W. G. 1942. The embriology of *Eleutherodactylus nubicola*, an anuran which has no tadpole stage. *Carnegie Inst. Washington Contrib. Embryol.* **30**: 27-59.
- Marks, S. C., Jr. e Popoff, S. N. 1988. Bone cell biology: the regulation of development, structure, and function in the skeleton. *Am. J. Anat.* **183**: 1-44.
- Miranda-Ribeiro, A. de. 1920. *Triprion, Diaglena, Corythomantis* etc. uma subsecção de Hylidae, com duas espécies novas. *Rev. Mus. Paulista* **12**: 83-88, 2 pls.
- Moore, J. A. 1987. Science as a way of knowing - developmental biology. *Amer. Zool.* **27**: 415-573.

- Nelson, G. 1978. Ontogeny, phylogeny, paleontology, and the biogenetic law. *Syst. Zool.* **27**: 324-345.
- Nimer, E. 1979. *Climatologia do Brasil*, IBGE, Rio de Janeiro, 442 pp.
- Noble, G. K. 1954. *The Biology of the Amphibia*, Dover Publications, 577 pp.
- Paolillo O., A. e Cerda, J. 1981. Nuevos hallazgos de *Aparasphenodon venezolanus* (Mertens) (Salientia, Hylidae) en el territorio federal Amazonas, Venezuela, con anotaciones sobre su biología. *Mem. Soc. Cienc. Nat. La Salle* **XLI** (115): 77-95.
- Parker, W. K. 1871. On the structure and development of the skull of the common frog (*Rana temporaria* L.). *Phil. Trans. R. Soc. London.* **161**: 137-211.
- Parker, W. K. 1876. On the structure and development of the skull in Batrachia. Part II. *Phil. Trans. R. Soc. London.* **166**: 601-669.
- Parker, W. K. 1881. On the structure and development of the skull in Batrachia. Part III. *Phil. Trans. R. Soc. London.* **172**: 1-226.
- Patterson, C. 1977. Cartilage bones, dermal bones and membrane bones, or the exoskeleton versus the endoskeleton. In: Mahala, S., Andrew, Miles, R. S. and Walker, A. D. *Vertebrate Evolution*, Linnean Society Symposium Series 4: 77-121.

- Patterson, C. 1982. Morphological characters and homology. In: Joysey, K. A. e Friday, A. E. (eds.), **Problems of Phylogenetics Reconstruction**, Academic Press, New York, p. 21-74.
- Ramaswami, L. S. 1940. Some aspects of the chondrocranium in the tadpole of South Indian frogs. Half-early Journal of Missouri University. N. S., 1B: 15-41.
- Ramaswami, L. S. 1956. "Frontoparietal" bone in Anura (Amphibia). Current Science 25: 19-20.
- Rieppel, O. 1985. The recessus scalae tympani and its bearing on the classification of reptiles. J. Herpetol. 19 (3): 373-384.
- Rieppel, O. C. 1988. **Fundamentals of Comparative Biology**. Birkhäuser, Basel, p. 1-202.
- Rocek, Z. 1986. Some features of the skull ontogeny in frogs (Amphibia, Anura) and their importance for recognizing the evolution of the group. In: Rocek, Z. (ed), **Studies in Herpetology**, Charles University, Prague, p. 89-96.
- Rocek, Z. e Vesely, M. 1989. Development of ethmoidal structures of the endocranium in the anuran *Pipa pipa*. J. Morph. 200: 301-319.
- Sampson, L. V. 1904. A contribution to the embriology of *Hylodes martinicensis*. Am. J. Anat. 3: 473-504.

- Sazima, I. e Cardoso, A. 1980. Notas sobre a distribuição de *Corythomantis greeningi* Boulenger, 1896 e *Aparasphenodon bruno*i Miranda-Ribeiro, 1920 (Amphibia, Hylidae). Iheringia, Sér. Zool. 55: 3-7.
- Seibert, E. A., Lillywhite, H. B. e Wassersug, R. J. 1974. Cranial coossification in frogs: relationship to rate of evaporative water loss. *Physiol. Zool.* 47 (4): 261-265.
- Shaw, J. P. 1989. Observations on polyphyodont dentition of *Hemiphractus proboscideus* (Anura: Hylidae). *J. Zool., Lond.* 217: 417-510.
- Shaw, J. P. e Ellis, S. A. 1989. A scanning electron microscope study of the odontoids and teeth in *Hemiphractus proboscideus* (Anura: Hylidae). *J. Zool., Lond.* 219: 533-543.
- Smirnov, S. V. 1989. Postmetamorphic skull development in *Bombina orientalis* (Amphibia, Discoglossidae), with comments on neoteny. *Zool. Anz.* 223 S. 1/2: 91-99.
- Smirnov, S. V. 1990. Evidence of neoteny: a paedomorphic morphology and retarded development in *Bombina orientalis* (Anura, Discoglossidae). *Zool. Anz.* 225 5/6: 324-332.
- Sokol, O. M. 1981. The larval chondrocranium of *Pelodytes punctatus* with a review of tadpole chondrocrania. *J. Morph.* 169: 161-183.

- Stephenson, R. M. T. 1960. The skeletal characters of *Leiopelma hamiltoni* Mc Culloch, with particular reference to the effects of heterochrony on the genus. Trans. R. Soc. New Zeland 88: 473-488.
- Stephenson, N. G. 1965. Heterochronous changes among Australian leptodactylid frogs. Proc. Zool. Soc. London 44: 339-350.
- Stokely, P. S. e List, J. C. 1954. The progress of the ossification of the cricketfrog *Pseudacris nigrita triseriata*. Copeia 1954 (3): 211-217.
- Taylor, A. C. e Kollros, J. J. 1946. Stages in the normal development of *Rana pipiens* larvae. Anat. Rec. 94: 7-23.
- Taylor, W. R. e Van Dyke, G. C. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. Cybium 9 (2): 107-119.
- Trueb, L. 1966. Morphology and development of the skull in the frog *Hyla septentrionalis*. Copeia 1966 (3): 562-573.
- Trueb, L. 1968. Cranial osteology of the hylid frog, *Smilisca baudini*. Univ. Kansas Publ., Mus. Nat. Hist. 18 (2): 11-35.
- Trueb, L. 1970a. Evolutionary relationships on casque-headed treefrogs with co-ossified skulls (Family Hylidae). Univ. Kansas Publ., Mus. Nat. Hist. 18 (7): 547-716.

- Trueb, L. 1970b. The generic status of *Hyla siemersi* Mertens. *Herpetologica* 26 (2): 254-267.
- Trueb, L. 1973. Bones, frogs and evolution. In: Vial, J. L. (ed.), **Evolutionary Biology of the Anurans**, University of Missouri Press, Columbia, p. 65-132.
- Trueb, L. 1985. A summary of osteocranial development in anurans with notes on the sequence of cranial ossification in *Rhinophrynus dorsalis* (Anura: Pipidae: Rhinophrynidae). *South African J. Sci.* 81: 181-185.
- Trueb, L. e Tyler, M. J. 1974. Systematics and evolution of the Greater Antillean hylid frogs. *Occas. Pap. Mus. Nat. Hist., Univ. Kansas*, 24: 1-60.
- Trueb, L. e Alberch, P. 1985. Miniaturization and the anuran skull: a case study of heterochrony. In: Dunker, H. R. and Fleischer, G. (eds.), **Functional Morphology in Vertebrates**, Proceedings 1<sup>st</sup> International Symposium on Vertebrate Morphology, Gustav Fisher Verlag, New York, *Fortsch. Zool.* 30: 113-121.
- Van Reden, J. A. 1951. The development of the chondrocranium of *Ascaphus truei* Stejneger with special reference to the relations of the palatoquadrate to the neurocranium. *Acta Zool.* 32: 41-176.
- Van der Westhuizen, C. M. 1961. The development of the chondrocranium of *Heleophryne purcelli* Sclater with special reference to the



palatoquadrate and the sound-conducting apparatus. Acta Zool. **42**: 1-72.

Weston, P. H. 1988. 2. Indirect and direct methods in systematics. In: Humphries, C. J. (ed.), **Ontogeny and Systematics**, Columbia University Press, New York, p. 27-56.

Wiens, J. J. 1989. Ontogeny of the skeleton of *Spea bombifrons* (Anura: Pelobatidae). J. Morph. **202**: 29-51.